Aus dem Department Pharmakokinetik A
(Leiter: Dr. Ulrich Täuber)
der Vorklinischen Entwicklung der Schering AG,
Berlin/Bergkamen

Pharmakokinetik und Beeinflussung der Cortisolkonzentrationen beim Menschen nach oraler Gabe hoher Dosen von Fluocortolon

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Kurt Richter
aus Altensteig
1985

Aus dem Department Pharmakokinetik A
(Leiter: Dr. Ulrich Täuber)
der Vorklinischen Entwicklung der Schering AG,
Berlin/Bergkamen

Pharmakokinetik und Beeinflussung der Cortisolkonzentrationen beim Menschen nach oraler Gabe hoher Dosen von Fluocortolon

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Kurt Richter
aus Altensteig

Referent: Prof. Dr. Friedmund Neumann
(Leiter des Hauptdepartments der Endokrinpharmakologie der Schering AG, Berlin/Bergkamen)

Korreferent: Prof. Dr. Karlheinz Voigt
(Institut für Klinische Pharmakologie, Klinikum Steglitz, Berlin)

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 12.06.1985

Wir müssen in der Tat zum Bewußtsein unserer selbst gelangen, um das Gute wählen zu können, aber diese Selbsterkenntnis wird uns nicht weiterhelfen, wenn wir die Fähigkeit eingebüßt haben, innerlich angerührt zu werden von der Not eines anderen menschlichen Wesens, vom freundlichen Blick eines anderen, vom Gesang eines Vogels und dem frischen Grün des Grases. Wenn der Mensch dem Leben gegenüber gleichgültig wird, besteht keine Hoffnung mehr, daß er das Gute wählen kann.

Erich Fromm

Gewidmet meiner Frau Irma

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547201_0036

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S Seite

1.	Einleitung	9
1.1	Allgemeine Einführung	9
1.2.	Einführung in die Thematik	11
2.	Versuchsanordnung, Methodik, Auswertung	15
2.1.	Versuchsanordnung	15
2.1.1.	Design der Studie	15
2.1.2.	Teilnehmer	15
2.1.3.	Durchführung	16
2.2.	Methoden und Materialien	20
2.2.1.	Plasmaanalytik	20
2.2.1.1.	HPLC-Methode - Prinzip - Materialien - Durchführung - Spezifität, Genauigkeit, Reproduzierbarkeit	20
2.2.1.2.	RIA-Methode - Prinzip - Materialien - Durchführung	25
2.2.1.3.	Gleichgewichtsdialyse - Prinzip - Materialien - Durchführung	29
2.2.2.	Urinanalytik	33

Seite

2.2.2.1. RIA-Methode 33
- Materialien
- Durchführung

2.3. Auswertung 36

2.3.1. Berechnung der pharmakokinetischen Parameter von Fluocortolon 36

2.3.2. Bestimmung der Cortisolsuppression 37

3. Ergebnisse 39

3.1. Zeitlicher Verlauf der Fluocortolon-Konzentrationen im Plasma 39

3.1.1. Ergebnisse der HPLC-Bestimmungen 39

3.1.2. Ergebnisse der radioimmunologischen Bestimmungen 41

3.2. Bestimmung des freien und proteingebundenen Anteils von Fluocortolon 41

3.2.1. In-vitro-Untersuchungen 41
- Bindung von Fluocortolon an Plasmaproteine
- Bindung von Fluocortolon in Gegenwart von Cortisol

3.2.2. In vivo-Untersuchungen 42
- Bindung von Fluocortolon im Probandenplasma 2 Stunden nach Applikation

3.3. Zeitlicher Verlauf der Cortisol-Konzentrationen im Plasma vor, während und nach der Behandlung mit Fluocortolon 43

3.4. Bestimmung des freien und proteingebundenen Anteils von Cortisol 44
- Bindung von Cortisol an Plasmaproteine
- Bindung von Cortisol in Gegenwart von Fluocortolon

3.5. Ausscheidung von Fluocortolon im Harn 45

Seite

4. Diskussion 47

4.1. Vergleich der Ergebnisse der Fluocortolonbestimmungen im Plasma mittels HPLC- und RIA-Methodik 47

4.2. Pharmakokinetik von Fluocortolon 50

4.3. Wirkung auf den Cortisolplasmaspiegel (Effektkinetik) 54

4.4. Konsequenzen für die Therapie 57

5. Zusammenfassung 59

6. Literaturverzeichnis 60

7. Anhang 65

- Tabellen 66

- Abbildungen 95

1. Einleitung

1.1. Allgemeine Einführung

Synthetische Kortikosteroide gehören seit etwa 25 - 30 Jahren zu den am meisten eingesetzten Arzneimitteln. Sie werden sowohl systemisch als auch lokal zur Therapie einer Reihe von Krankheitsbildern eingesetzt. Die meisten synthetischen Kortikosteroide leiten sich vom körpereigenen Cortisol (Hydrocortison, Abb. 1) ab.
Durch die Einführung einer Doppelbindung zwischen C-1 und C-2 im Ring A des Pregnan-Gerüstes sowie durch Substitution mit einer Hydroxyl- oder Methylgruppe an C-16 bzw. einer Methylgruppe oder eines Fluoratoms in Position 6α und 9α (Abb. 2) gelang es, die entzündungshemmende Wirkung gegenüber Cortisol um das 4 - 30-fache (Tab. 1) zu steigern und gleichzeitig die mineralokortikoide Wirkung zu mindern oder ganz zu eliminieren (NEUMANN und SCHENK, 1983; HAYNES und MURAD, 1980).
Fluocortolon (6α-Fluor-16α-Methyl-1-dehydro-corticosteron) leitet sich als einziges synthetisches Glukokortikoid nicht vom Cortisol sondern vom Corticosteron ab (Abb. 3). Corticosteron selbst ist antiphlogistisch inaktiv (SARETT et al., 1963), dem 1-Dehydrocorticosteron wird nur eine sehr geringe entzündungshemmende Wirkung zugeschrieben (FRIED, 1958).

Sowohl die Einführung einer Methylgruppe in die 16α-Position (RASPÉ et al., 1964) als auch die Fluorsubstitution in 6α-Stellung bei 1-Dehydrocorticosteron führt für sich jeweils zu einer deutlichen Aktivitätssteigerung. Die Kombination beider Substitutionen in der 6- und 16-Position zum 6α-Fluor-16α-methyl-1-dehydrocorticosteron (Fluocortolon) ergibt eine signifikante Aktivitätssteigerung, die den additiven Wert der beiden einzelnen Wirkungsverbesserungen bei weitem überschreitet (KIESLICH und KERB, 1967).

Fluocortolon wird als freier Steroidalkohol in der oralen Therapie zur Behandlung von Krankheiten des rheumatischen Formenkreises, der Leber, der Nieren, der Gefäße, des Blutes, der Lunge und der Augen, zur Behandlung von Allergien, toxischen Zuständen bei Infektionskrankheiten, Tuberkulose sowie bei inkurablen malignen Tumoren eingesetzt.

In Kombination mit seinen Estern (Fluocortolon-21-hexanoat, Fluocortolon-21-pivalat) wird es in der lokalen Therapie kortikoid-sensitiver Dermatosen verwendet.

Die morbostatische Wirkung von Fluocortolon entspricht bei Verabreichung gleicher Dosen etwa der des Prednisolons bzw. Prednisons (aus: Ultralan^{R}-oral-5, -20, -50 zur systemischen Kortikoidtherapie. Ärzteinformation, Schering AG, 1981).

1.2. Einführung in die Thematik

Die Synthese und Sekretion von Glukokortikoiden wird von ACTH (adrenocorticotropic hormone) stimuliert. Die ACTH-Sekretion aus der Hypophyse unterliegt der Regulation durch den hypothalamischen Freisetzungfaktor CRF (corticotropin releasing factor), dessen Sekretion seinerseits von übergeordneten Zentren im Zentralnervensystem durch Neurotransmitter reguliert wird.
Zwischen den einzelnen Zentren (Hypophysenvorderlappen, Hypothalamus und übergeordnete Zentren) und den zirkulierenden Glukokortikoiden besteht ein negativer Rückkopplungsmechanismus, d.h. alle Glukokortikoide, auch synthetische, können an allen übergeordneten Zentren inhibierend wirken.
Die Sekretion von CRF, ACTH und Glukokortikoiden erfolgt episodisch, wobei die einzelnen Sekretionsspitzen in Anzahl und Dauer zwischen 3 und 8 Uhr ein Maximum und zwischen 18 und 24 Uhr ein Minimum erreichen.
Diese zirkadiane Rhythmik wird von den dem Hypothalamus überordneten Zentren gesteuert. Die Empfindlichkeit der übergeordneten Zentren des Rückkopplungssystems ist während des physiologischen Sekretionstiefs zwischen 18 und 24 Uhr am höchsten. Schon sehr geringe Glukokortikoid-Konzentrationen wirken in dieser Phase inhibierend auf die ACTH-Sekretion und können den zirkadianen Rhythmus stören. Dieses Phänomen ist für die therapeutische Anwendung von Glukokortikoiden von Bedeutung (NEUMANN und SCHENK, 1983). So ist bei der gleichen Dosis die

Störung des zirkadianen Rhythmus nach abendlicher Gabe wesentlich größer als nach morgendlicher Gabe. Es erklärt aber auch, warum synthetische Glukokortikoide mit langer Halbwertzeit eine intensivere Wirkung haben als solche mit kürzerer Halbwertzeit.

Deshalb ist für eine sichere Pharmakotherapie, insbesondere dann, wenn der Arzneistoff über längere Zeit gegeben werden muß, die genaue Kenntnis seines pharmakokinetischen Verhaltens beim Gesunden und beim Patienten eine absolute Notwendigkeit.

Die meisten Kortikosteroide für die systemische Anwendung wurden zu einer Zeit in die Therapie eingeführt, in der kaum ausreichend spezifische und empfindliche analytische Methoden zur Verfügung standen. Die meisten Beobachtungen bezüglich Wirkstärke und Wirkdauer ("biologische Halbwertzeit") von Kortikosteroiden stammen daher aus der Klinik (KAISER, 1957). Untersuchungen zur Pharmakokinetik aus den fünfziger und sechziger Jahren waren praktisch nur mit radioaktiv markierten Kortikoiden möglich und beschränkten sich meist auf unspezifische Messungen der Radioaktivitätskonzentration im Plasma sowie in Urin und Faeces (KOLB, 1967). Als analytische Methode zur Auftrennung von Plasma und Urinproben stand nur die zeitaufwendige und in ihrer Trennleistung nicht immer befriedigende Methode der Dünnschichtchromatographie mit anschließender Radioaktivitätsdetektion zur Verfügung (GERHARDS und NIEUWEBOER, 1967, 1971).

Für die damals zur Verfügung stehenden nichtradioaktiven analytischen Methoden waren die Dosierungen und die damit erzielten Plasmaspiegel in der Regel zu niedrig. Erst mit der Entwicklung von Radiorezeptor- (BALLARD et al., 1975; KHALID et al., 1982) und Radioimmunoassays (COLBURN und BULLER, 1973; SCHALM et al., 1976; MEIKLE et al., 1975; TÄUBER et al., 1984) wurde es möglich, die Pharmakokinetik von synthetischen Kortikoiden am gesunden Probanden und an verschiedenen Patientengruppen genauer zu studieren. Die Radiorezeptor- und Immunoassays zeichnen sich durch eine hohe Empfindlichkeit aus. Die Nachweisgrenze im Plasma ist in der Regel durch die Kreuzreaktion mit endogenen Steroiden limitiert. Häufig sind genaue Angaben zur Spezifität jedoch nicht vorhanden.
Da synthetische Kortikosteroide im Organismus in eine Vielzahl von Metaboliten umgewandelt werden, sind Kreuzreaktionen mit Metaboliten nicht immer auszuschließen. Erst in den letzten Jahren wurden HPLC-[1] (BUTTE, 1979; DIX SMITH, 1980; HUANG et al., 1983; AGABEYGLOU et al., 1980; LOO et al., 1977; ÖST et al., 1982; TOOTHAKER et al., 1982) und GC/MS-Methoden[2] (MATIN und AMOS, 1978) zur Bestimmung synthetischer Kortikosteroide im Plasma ausgearbeitet.

[1] HPLC = Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie

[2] GC/MS = Gaschromatographie/Massenspektrometrie

Die vorliegende Arbeit hatte zwei Ziele:
Zunächst sollte eine HPLC-Methode zur Bestimmung von Fluocortolon im Plasma ausgearbeitet und hinsichtlich Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit charakterisiert werden.
Diese Methode sollte eine sichere Abtrennung von Fluocortolon von allen anderen endogenen Steroiden und von bekannten Plasmametaboliten des Fluocortolons ermöglichen. Außerdem sollte in einem HPLC-Lauf die Messung der Fluocortolon- und Cortisol-Konzentration im Plasma möglich sein.

Im klinisch-kinetischen Teil sollte das pharmakokinetische Verhalten von Fluocortolon nach oraler Gabe von Dosen von 20, 50 und 100 mg an Probanden im intraindividuellen Vergleich ermittelt werden. Dazu wurde der Fluocortolonplasmaspiegel mit obiger Methode gemessen und mit den Ergebnissen der radioimmunologischen Bestimmungsmethode verglichen. Es wurde geprüft, ob sich die Pharmakokinetik von Fluocortolon dosislinear verhält. Daneben wurde versucht, den Zeitverlauf der Cortisolsuppression, d.h. die Kinetik eines durch Fluocortolon hervorgerufenen pharmakodynamischen Effektes zu analysieren.

2. Versuchsanordnung, Methodik, Auswertung

2.1. Versuchsanordnung

2.1.1. Design der Studie

Bei der vorliegenden Studie handelte es sich um einen intraindividuellen Vergleich mit geschichteter Randomisierung. 9 Probanden erhielten jeweils 3 Dosierungen von Fluocortolon in randomisierter Reihenfolge: 20, 50 und 100 mg. Die Applikation erfolgte jeweils um 8.00 Uhr morgens in wöchentlichen Abständen.

2.1.2. Teilnehmer der Studie

Für die Teilnehmer der Studie galten folgende Einschlußkriterien:

- Alter zwischen 18 und 35
- guter Gesundheitszustand dokumentiert durch klinische und laborchemische Untersuchungen
- Körpergewicht wie in der Tabelle der Metropolitan Life Insurance Company aufgeführt
- Bereitschaft zur zuverlässigen Zusammenarbeit
- Unterschreiben der Probandeninformation (siehe Anhang)

Ausschlußkriterien:

Folgende Personen durften nicht an der Studie teilnehmen:

- Alkoholiker
- Personen mit ernsthaften psychiatrischen Erkrankungen
- Personen mit ernsthaften akuten oder chronischen Erkrankungen
- Personen, die Arzneimittel in der Woche vor Beginn der Studie genommen haben
- Personen, die an einer Arzneimittelprüfung innerhalb der letzten 8 Wochen teilgenommen haben
- Personen mit abnormen Laborwerten
- Personen mit gastrointestinalen Beschwerden

Die biologischen Daten der Probanden, die an der Studie teilnahmen, gehen aus der Tabelle 2 hervor.

Es waren 9 gesunde, männliche Probanden im Alter zwischen 24 und 34 Jahren (28.3 $\pm$ 3.6 Jahre). Sie hatten eine durchschnittliche Größe von 178.3 $\pm$ 7.2 cm und ein Durchschnittsgewicht von 72 $\pm$ 10 kg.

2.1.3. Durchführung der Studie

Voruntersuchung, Applikation und Probennahme erfolgten im Department Externe Therapie der Schering AG.

Innerhalb von 7 Tagen vor Beginn der Studie wurden durchgeführt:

1. Vollständige Anamnese einschließlich klinischer Untersuchung

2. Differentialblutbild, Serum- und Urinanalyse

3. Augeninnendruck-Messung, einmalig vor dem ersten Behandlungstag

Jeder Proband erhielt zusammen mit seinen Initialen eine Nummer (1 - 9) (siehe Tab. 2).

Die Probanden erhielten die drei verschiedenen Dosierungen von Fluocortolon (20, 50 und 100 mg) in wöchentlichen Abständen in randomisierter Reihenfolge (siehe Tabelle 3).
Fluocortolon wurde als Ultralan^{R}-oral 20 (Tablette mit 20 mg Fluocortolon) und Ultralan^{R}-oral 50 (Tablette mit 50 mg Fluocortolon) verabreicht.
Die Applikation erfolgte jeweils morgens um 8.00 Uhr zusammen mit 100 ml Wasser nach der Einnahme eines Standardfrühstücks, bestehend aus Tee, 2 Brötchen mit Butter und Marmelade.

Die Tage der Applikationen verbrachten die Probanden im Department Externe Therapie, an den anderen Tagen, an denen Blutproben abgenommen wurde (siehe Tabelle 4),

fanden sich die Probanden jeweils 30 Minuten vor dem Zeitpunkt der Blutentnahme im Department ein. Alkoholische Getränke sowie die Einnahme anderer Arzneimittel waren während der Versuchstage nicht erlaubt.

Die Blutentnahmen zur Wirkstoff- und Cortisolspiegelmessung wurden an den aus Tabelle 4 ersichtlichen Zeitpunkten vorgenommen.
Pro Zeitpunkt wurden ca. 5 ml Blut abgenommen, wobei als Antikoagulans Heparin verwendet wurde. Das Blut wurde innerhalb von 15 Minuten nach der Abnahme zentrifugiert und das Plasma in beschriftete Glasgefäße überführt.

Die Beschriftung der Glasgefäße bestand aus:
- Initialen der Probanden,
- Probandennummer,
- Datum der Applikation,
- Zeitpunkt der Blutentnahme

Die Plasmaproben wurden bis zur Analyse bei -18°C im Tiefkühlschrank aufbewahrt.

Urin wurde in 0 - 24 h-Fraktionen (beginnend jeweils 8.00 Uhr morgens) bei allen drei Dosierungen jeweils am Tag vor der Behandlung, am Behandlungstag und an den zwei darauf folgenden Tagen gesammelt und entsprechend beschriftet (Initialen, Probandennummer, Datum der Sam-

melfraktion). Es wurden die Urinvolumina bestimmt und 20 ml-Aliquots bis zur Analyse bei -18°C im Tiefkühlschrank aufbewahrt.
Beim Auftreten evtl. Nebenwirkungen sollte über Schwere, Zeitpunkt des Auftretens, Dauer und Zusammenhang mit der Arzneimitteleinnahme ein Protokoll geführt werden.

Ein Proband war von der Arzneimittelprüfung auszuschliessen:

1. wegen mangelnder Kooperation
2. beim Zurückziehen seines Einverständnisses
3. wegen Krankheit
4. bei unerlaubter Einnahme von Arzneimitteln oder alkoholischer Getränke
5. bei sonstigem Abweichen vom Protokoll oder von der Compliance
6. bei schweren oder unerwarteten Nebenwirkungen.

Drop-outs waren zu ersetzen, wenn mehr als drei Probanden die Studie nicht beenden.

Die Analyse und Auswertung der Proben wurde im Department Pharmakokinetik der Schering AG durchgeführt.

2.2. Methoden und Materialien

2.2.1. Plasmaanalytik

2.2.1.1. HPLC-Methode

High-Pressure Liquid Chromatography (HPLC)

- Prinzip der Methode

Chromatographie ist der Trennprozeß, bei welchem das Probengemisch zwischen zwei Phasen, der sogenannten stationären und der sogenannten mobilen Phase verteilt wird. Bei der HPLC wird das zu analysierende Substanzgemisch auf eine Säule, die mit der stationären Phase - einem Material mit hoher spezifischer Oberfläche - beladen ist, aufgebracht und unter hohem Druck mit der mobilen Phase eluiert.
Von Reversed-Phase- oder Phasenumkehr-Chromatographie spricht man dann, wenn die stationäre Phase unpolarer ist als das Eluens. Die stationäre Phase besteht aus ODS (Octadecylsilan, einem an Kieselgel gebundenen Alkan mit 18 C-Atomen).
Bei der Verteilungs- oder Adsorptionschromatographie in Reversed-Phase werden die Substanzen in der Reihenfolge ihrer Polarität von der Säule eluiert, die polarsten Substanzen haben die kürzesten, die apolarsten Substanzen die längsten Retentionszeiten.

- Materialien

- aqua bidestillata	Fa. Schering,	Berlin
- Cortisol (Hydrocortison)	Fa. Schering,	Berlin
- Cortison	Fa. Schering,	Berlin
- Corticosteron	Fa. Schering,	Berlin
- Cortexolon	Fa. Schering,	Berlin
- Dexamethason	Fa. Schering,	Berlin
- Fluocortolon	Fa. Schering,	Berlin
- 1,2,4-^{3}H-Fluocortolon	Fa. Schering,	Berlin
- 11-Keto-Fluocortolon	Fa. Schering,	Berlin
- Diäthyläther p.a.	Fa. Merck,	Darmstadt
- Eisessig	Fa. Schering,	Berlin
- Methanol p.a.	Fa. Merck,	Darmstadt
- CO_2-Trockeneis	Fa. Schering,	Berlin
- Humanplasma ohne	Berliner Blutspendedienst	Berlin
Konservierungsstoffe	Fa. Behring	
- Aktivkohle	Fa. Merck,	Darmstadt
- Dextran T 70	Pharmacia Fine Chemicals,	Uppsala
- RIA-Rotator	Fa. Heidolph,	Kehlheim
- Kühlzentrifuge "Cryofuge 6-6"	Fa. Heraeus Christ GmbH,	Osterode
- IKA-Vibro-Mix (Whirl-Mix)	Fa. Janke + Künkel	Staufen i. Brsg.
- Knauer Autosampler Nr. 75.00	Fa. Knauer,	Berlin
- Knauer Pump 64	Fa. Knauer,	Berlin
- Knauer Millipore-Filter	Fa. Knauer,	Berlin
- Säule (125 x 4) gefüllt mit	Fa. Bischoff,	Leonberg
- Spherisorb ODS II 3 µm	Fa. Phase Sep. Promodem GmbH	Degel
- Kratos Spectroflow 773	Fa. Kratos,	Karlsruhe
- W + W Recorder 600 Tarkan	Fa. W + W Electronic	Basel
- Interface, Eigenbau	Fa. Schering,	Berlin
- Computer CHB 66/80 P	Fa. Honeywell Bull	
- Rundbodengläser 75 x 11	Fa. Münnerstädter Glas-warenfabrik	

- Pipetten für unterschiedliche Volumina	Fa. Eppendorf, Fa. Oxford,	Hamburg München
- Probengläschen für autom. Probengeber	Fa. Machery-Nagel	Düren
- Schüttelwasserbad	Fa. Köttermann	Häningen

- Durchführung

Den jeweiligen Plasmaproben wurde ein Aliquot von 0.5 ml Plasma entnommen, 100 ng Dexamethason - gelöst in 10 µl Methanol - als Interner Standard zupipettiert und mit 2.5 ml Diäthyläther bei Zimmertemperatur 30 min am Heidolph-Rotor extrahiert. Nach Zentrifugieren bei ca. 2000 g für 15 min bei 4°C wurden die Phasen durch Ausfrieren der wässrigen Phase in Methanol/Trockeneis und Abkippen der organischen Phase getrennt. Der Äther wurde im Stickstoffstrom abgeblasen und der Rückstand in 1 ml des für die HPLC verwendeten Eluens aufgenommen.

Nach Lösen des Rückstands auf dem Whirl-Mix erfolgte durch nochmaliges Zentrifugieren bei ca. 2000 g für 15 min bei 4°C ein Sedimentieren ausgefallener Plasmabestandteile.
Der Überstand wurde direkt zur Analyse verwendet. 100 µl des Überstandes wurden vom automatischen Probengeber auf die Säule (bestehend aus zwei hintereinander geschalteten Säulen Spherisorb ODS II 3 µm) gegeben und isokratisch mit einem Gemisch aus Methanol/Wasser/Eisessig im Verhältnis 580/420/3 (v/v) bei einem Fluß von 0.9 ml/min

und einem mittleren Druck von 36 MPa eluiert und mit einem UV-Detektor (absorbance units full scale 0.002; rise time second 2) bei 254 nm gemessen. Die ermittelten Werte wurden analog von einem Schreiber aufgezeichnet und gleichzeitig digital über ein Interface auf den Zentralcomputer (CHB 66/80 P) übertragen.

Die mobile Phase wurde vor Gebrauch eine halbe Stunde an einer Wasserstrahlvakuumpumpe entgast und durch einen Millipore-Filter von der HPLC-Pumpe angesaugt.

Die Plasmaproben jedes Kinetiktages wurden zusammen mit einer Plasmaeichkurve für Cortisol (Abb. 4) und einer Plasmaeichkurve für Fluocortolon (Abb. 5) extrahiert und analysiert. Die Konzentrationswerte der Plasmaeichkurven wurden dreifach bestimmt.

Die Auswertung erfolgte mit dem Computer. Für die beiden Eichgeraden wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt.

Mit Hilfe des Computer-Auswertprogrammes GCAW der Schering AG Berlin wurden aus dem Quotient aus der Peakhöhe für Fluocortolon und dem Internen Standard bzw. dem Quotient aus der Peakhöhe für Cortisol und dem Internen Standard jeweils die unbekannten Konzentrationen im Probandenplasma bestimmt.

- Spezifität, Genauigkeit, Reproduzierbarkeit

Mit der beschriebenen HPLC-Methode kann Fluocortolon zufriedenstellend von den endogenen Kortikoiden Cortison, Cortisol, Corticosteron und Cortexolon, von dem synthetischen Kortikoid Dexamethason (als Interner Standard) und von seinem Metaboliten 11-Keto-Fluocortolon getrennt werden (Abb. 6).
Zwei repräsentative HPLC-Chromatogramme von Probandenplasma, zur Bestimmung der Cortisol- und Fluocortolon-Konzentrationen, werden in Abb. 7A und 7B gezeigt.
Aus den dreifach bestimmten Konzentrationswerten der Eichkurven und der dabei gefundenen Abweichung vom jeweiligen Mittelwert wurde die Intra-Assay-Varianz (Variationskoeffizient V_x) nach folgender Formel berechnet:

$$V_x = \frac{S_x \times 100}{X} \%$$ (X = Mittelwert; Sx = Standardabweichung)

Zur Ermittlung der Inter-Assay-Varianz wurde Fluocortolon in einer Konzentration von 100 ng/ml Plasma in zwei Assays jeweils zweimal bestimmt. Die Berechnung erfolgte nach obiger Formel aus den gefundenen Abweichungen vom Mittelwert.

2.2.1.2. Radioimmunologische Bestimmung von Fluocortolon in den Probandenplasmen (RIA)

- Prinzip der Methode

Der RIA verbindet die hohe Nachweisempfindlichkeit radioaktiver Meßmethodik mit der großen Spezifität immunologischer Reaktionen.
Im Verlauf der Reaktionen eines Antikörpers mit einem Antigen stellt sich zwischen den Reaktionspartnern und dem gebildeten Antigen-Antikörper-Komplex ein Gleichgewichtszustand ein.
Wird das unmarkierte Antigen durch radioaktiv markiertes Antigen ersetzt, das sich chemisch nicht oder nur geringfügig, immunologisch jedoch keinesfalls von diesem unterscheidet, so wird es in gleicher Weise mit dem Antikörper reagieren.

Der RIA versteht sich als kompetetive Proteinbindungsanalyse. Eine variable Menge des zu bestimmenden Fluocortolon und eine konstante Menge radioaktiv markiertes Fluocortolon konkurrieren um eine begrenzte und ebenfalls konstante Zahl von Bindungsplätzen des Antikörpers.
Vom Antikörper wird um so weniger radioaktiv markiertes Fluocortolon gebunden, je mehr unmarkiertes Fluocortolon vorhanden ist. Damit ist der Anteil der gebundenen Radio-

aktivität ein Maß für die Konzentration des zu bestimmenden Fluocortolon.

Materialien

- BSA-Puffer (pH 7)		
0.041 m $Na_2HPO_4 \times 2H_2O$	Fa. Merck,	Darmstadt
0.026 m KH_2PO_4	Fa. Merck,	Darmstadt
0.154 m NaCl	Fa. Merck,	Darmstadt
0.015 m NaN_3	Fa. Riedel de Haen,	Hannover
0.1 % (w/v) Rinderserumalbumin	Fa. Serva,	Heidelberg
- Methanol	Fa. Merck,	Darmstadt
- Trockeneis	Fa. Schering,	Berlin
- Diäthyläther p.a.	Fa. Merck,	Darmstadt
- Charcoal-Suspension in physiologischer Kochsalzlösung:		
0.5 % (w/v) Aktivkohle p.a.	Fa. Merck,	Darmstadt
0.05 % (w/v) Dextran T 70	Fa. Merck,	Darmstadt
- Antikörper gegen Fluocortolon-21-hemisuccinat-BSA aus Kaninchen	Fa. Schering,	Berlin
- 1,2,4-^{3}H-Fluocortolon	Fa. Schering,	Berlin
- Fluocortolon	Fa. Schering,	Berlin
- Pipettierautomat FE 213 mit Pumpenköpfen 0.1, 0.2 und 0.5 ml	Fa. Braun,	Melsungen
- Kühlzentrifuge "Cryofuge 6-6"	Fa. Heraeus Christ,	Osterode
- RIA-Rotor	Fa. Heidolph,	Kehlheim
- Tri-Carb Liquid Scintillation Spectrometer	Fa. Packard,	Frankfurt
- Pipetten unterschiedlicher Volumina	Fa. Eppendorf, Fa. Oxford,	Hamburg München

- RIA-Glasröhrchen (Rundbodengläser) 75 x 11 mm	Fa. Münnerstädter Glaswarenfabrik	
- Szintillationsfläschchen	Fa. Packard,	Frankfurt
- Pico-Fluor-Szintillationsflüssigkeit	Fa. Packard,	Frankfurt

- Durchführung des RIA (nach TÄUBER et al, 1984)

Die Analyse des Fluocortolon im Plasma wurde durchgeführt mit einem Antikörper gegen Fluocortolon-21-hemisuccinat-BSA aus Kaninchen.

1,2,3-^{3}H-Fluocortolon mit einer spezifischen Aktivität von 370 GBq/nmol wurde als Tracer benutzt, von dem jedem Ansatz ca. 5000 cpm zugegeben wurden.

In jedem Ansatz wurde ein Natrium-Phosphat-Puffer (BSA-Puffer, pH 7.0) benutzt.

Plasmaaliquote (Plasma-Menge, entsprechend dem notwendigen Verdünnungsfaktor, ad 0.5 ml mit BSA-Puffer aufgefüllt, z.B. Faktor 100 : 0.1 ml Plasma + 0.4 ml BSA-Puffer) wurden mit 2.5 ml Diäthyläther während 30 Minuten bei Zimmertemperatur am Heidolph-Rotor extrahiert.

Nach Zentrifugieren bei 2000 g für 15 min wurden die Phasen durch Ausfrieren der wässrigen Phase im Methanol-Trockeneisbad und Abkippen der organischen Phase getrennt.

Der Äther wurde im Stickstoffstrom abgeblasen und der Rückstand in geeignetem (entsprechend dem Verdünnungsfak-

tor nötigen) Volumen BSA-Puffer aufgenommen (z.B. Faktor 100: Rückstand in 1 ml BSA-Puffer aufnehmen; 0.1 ml davon wurden im RIA eingesetzt).

Zu 0.1 ml des in BSA-Puffer aufgenommenen Extrakts wurden 0.1 ml Tracer (ca. 5000 cpm) und 0.1 ml Anti-Fluocortolon-Lsg. (Verdünnung im Ansatz 1 : 20 000) pipettiert und dann ad 1 ml mit BSA-Puffer aufgefüllt. Damit ergaben sich Ansatzvolumina von 1 ml, die bei 4°C für 16 h inkubiert wurden.

Die Trennung von gebundenem und ungebundenem Fluocortolon erfolgte durch Zugabe von 0.5 ml Charcoalsuspension (0.5 % Aktivkohle, 0.05 % Dextran (w/v)), die nach 20-minütiger Inkubation im Eiswasserbad durch Zentrifugation während 15 min vollständig sedimentiert wurde.

Der Überstand wurde in Szintillationsfläschchen überführt und nach Zugabe von 10 ml Flüssig-Szintillator im Szintillationszähler gemessen.

Die unbekannten Proben wurden zusammen mit einer Eichkurve (0, 39, 78.1, 156.3, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000, 10 000 pg Fluocortolon in Puffer) gemessen (siehe Abb. 8)

Die Auswertung erfolgte anhand der logit-log-transformierten Eichkurve mit Hilfe des Computerprogrammes /ABC/ RIALOG,E am Zentralrechner CHB 66/80 P der Schering AG. Die unbekannten Plasmaproben wurden doppelt bestimmt.

2.2.1.3. Gleichgewichtsdialyse

Zur Bestimmung des proteingebundenen Anteils von Fluocortolon

- Prinzip der Methode

Die Gleichgewichtsdialyse dient der Bestimmung des proteingebundenen und des freien Anteils von Fluocortolon. Dazu werden Plasmaproben mit definierten Fluocortolon-Konzentrationen oder die Proben aus der Humanstudie mit ^{3}H-markiertem Fluocortolon versetzt und 2 h lang gegen 1/15 m Phosphatpuffer pH 7.4 dialysiert. Während der Dialyse stellt sich ein Gleichgewicht zwischen dem nicht gebundenen Anteil von Fluocortolon auf Plasma und Pufferseite ein. Die Fluocortolon-Konzentration im Puffer entspricht dem freien, die im Plasma der Summe von gebundenem und freiem Anteil. Die Bestimmung der Fluocortolon-Konzentration auf beiden Seiten der Dialysemembran erfolgt durch die Messung der Radioaktivität im Szintillationszähler.

- Materialien

- 1,2,4-^{3}H Fluocortolon	Fa. Schering,	Berlin
- Fluocortolon	Fa. Schering,	Berlin
- Cortisol	Fa. Schering,	Berlin
- 1,2-^{3}H Cortisol	Fa. Amersham,	Braunschweig
- Humanplasma ohne	Berliner Blutspendedienst,	Berlin
Konservierungsstoffe	Fa. Behring	

- Phosphatpuffer pH 7.4:		
1/15 m KH_2PO_4-Lösung	Fa. Merck,	Darmstadt
1/15 m $Na_2HPO_4 \times 2H_2O$-Lösung	Fa. Merck,	Darmstadt
- Membranfolie (zur Dialyse) 63 mm Ø, molekulare Ausschlußgrenze 5000 Dalton	Fa. Bachhofer,	Reutlingen
- Teflonzellen Makro-1-ED-Dialysezellen	Fa. Bachhofer,	Reutlingen
- Diachrom-4-Gleichgewichtsdialyseantrieb mit elektrischer Drehzahlregelung 220 V/50 Hz	Fa. Bachhofer,	Reutlingen
- Makrozellenträger	Fa. Bachhofer,	Reutlingen
- Eppendorfpipetten div. Größen	Fa. Eppendorf,	Hamburg
- Tri-Carb Liquid Scintillations-Spectrometer	Fa. Packard,	Frankfurt
- Pico-Fluor Szintillationsflüssigkeit	Fa. Packard,	Frankfurt
- Szintillationsfläschchen	Fa. Packard,	Frankfurt
- Aktivkohle p.a.	Fa. Merck,	Darmstadt
- Dextran T 70	Pharmacia Fine Chemicals,	Uppsala
- Schüttelwasserbad	Fa. Köttermann,	Häningen

- Durchführung der Gleichgewichtsdialyse

In Vorversuchen in vitro wurden zum einen die Plasmaproteinbindung von Cortisol ohne und in Gegenwart von 500 ng Fluocortolon/ml Plasma, zum anderen die Plasmaproteinbindung von Fluocortolon ohne und in Gegenwart von 200 ng Cortisol/ml Plasma bestimmt.
Hierzu wurden in Plasma Konzentrationsreihen für Cortisol und Fluocortolon hergestellt.

Das verwendete Plasma wurde zuvor mit gewaschener Aktivkohle unter Zugabe von Dextran weitestgehend von allen physiologischen Kortikoiden befreit. Dazu wurden pro Milliliter Humanplasma 50 mg Aktivkohle und 5 mg Dextran zugegeben und mit dem Magnetrührer gemischt. Nach 30 min Inkubation im Wasserbad bei Zimmertemperatur unter ständiger leichter Bewegung wurde die dextranbeschichtete Aktivkohle bei 3000 UPM bei 4°C während 10 min vollständig sedimentiert. Der Überstand wurde direkt zur Herstellung der Konzentrationsreihen mit Cortisol bzw. Fluocortolon eingesetzt.
Für Fluocortolon und Cortisol wurden je zwei Konzentrationsreihen hergestellt. Einer Konzentrationsreihe mit Fluocortolon wurden jeweils 200 ng Cortisol/ml, einer Konzentrationsreihe mit Cortisol jeweils 500 ng Fluocortolon/ml zugegeben.
Außerdem wurden jeder Verdünnungsstufe der beiden Verdünnungsreihen mit Cortisol ca. 20 000 cpm ^{3}H-Cortisol, jeder Verdünnungsstufe mit Fluocortolon ca. 20 000 cpm ^{3}H-Fluocortolon zugegeben.

Zur Durchführung wurden zwei runde Profildeckel aus Teflon zu einer Dialysezelle zusammengesetzt. Vor dem Zusammensetzen wurde über einen der beiden Deckel eine Dialysemembran gespannt, die nach Zusammensetzen die Dialysezelle in zwei gleich große Kammerhälften trennte. Die verwendeten Membranen wurden vorbereitend während 30 min mit destilliertem Wasser gewaschen. Anschließend folgte

zweimaliges Quellen und Sättigen der Membranen im verwendeten Phosphatpuffer während 15 Minuten.
Die Teflondeckel waren so mit Bohrungen versehen, daß die beiden Kammerhälften problemlos beschickt und entleert werden konnten.

Pro Verdünnungsreihe von Cortisol ergab sich folgender Versuchsansatz:

I Puffer / Puffer + ^{3}H-Cortisol
II Puffer / Plasma + ^{3}H-Cortisol

Entsprechend für die beiden Verdünnungsreihen mit Fluocortolon der Versuchsansatz:

I Puffer / Puffer + ^{3}H-Fluocortolon
II Puffer / Plasma + ^{3}H-Fluocortolon

Der mit I bezeichnete Wert diente zur Kontrolle der Gleichgewichtseinstellung.
Der Bindungswert jeder Konzentration der vier verschiedenen Verdünnungsreihen wurde doppelt bestimmt.

Nach Füllen der Dialysekammern wurden diese auf Trägervorrichtungen zu fünf Kammern in einen Rotationsantrieb eingesetzt und bei konstant 16 UPM bei Zimmertemperatur dialysiert.

Nach einer Dialysezeit von 120 Minuten wurden die Dialysekammern entleert. Zur Auswertung wurden den Proben Aliquote von je 100 µl entnommen und mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit versetzt und zur Radioaktivitätsmessung in einer für ein EDV-Auswertprogramm richtigen Reihenfolge in den Szintillationszähler gestellt.

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Fortran-Programmes /TB/PROT nach den Formeln:

$$\% \text{ gebunden} = 100 \cdot \frac{\text{dpm (Plasma)} - \text{dpm (Puffer)}}{\text{dpm (Plasma)}}$$

$$\% \text{ frei} = 100 \cdot \frac{\text{dpm (Puffer)}}{\text{dpm (Plasma)}}$$

2.2.2. Urinanalytik

2.2.2.1. RIA-Methode

Im 0 - 24 h Urin des jeweiligen Behandlungstages (gesammelt ab 8.00 Uhr morgens) sollte mittels RIA neben dem freien unveränderten Fluocortolon auch das konjugierte und damit das Gesamt-Fluocortolon bestimmt werden. Während zur Bestimmung des unveränderten freien Fluocortolon der Urin direkt zur Extraktion eingesetzt werden konnte, mußten zur Bestimmung des konjugierten Fluocortolons die Konjugate im Urin zuerst enzymatisch gespalten werden.

- Materialien

- Enzyme aus Helix Pomatia — Fa. Boehringer, Mannheim
  ß-Glucuronidase,
  spezif. Aktivität ca. 5 U/ml
  Arylsulfatase,
  spezif. Aktivität 14 U/ml
  pH-Optimum 4 - 5 für beide Enzyme
  Bestell-Nr. 127060 (2 ml) ß-Glucuronidase
  Bestell-Nr. 127698 (10 ml) Arylsulfatase

- Acetatpuffer (pH 4.66) — Fa. Merck, Darmstadt

- Penicillin (Na-Salz) — Fa. Hoechst, Frankfurt
  Stammlösung: 1 Mio I.U./10 ml physiol. Kochsalzlösung
  10 ml entsprechen 1000 I.U.

- Phenolphthaleinglucuronid — Fa. Serva, Heidelberg
  10 mg/ml Acetatpuffer (pH 4.66)

- physiol. Kochsalzlösung — Fa. Fresenius, Bad Homburg

- NaOH (5N/Fixanal) — Fa. Riedel de Haen, Hannover

Für den RIA wurden dieselben Materialien verwendet wie in der Methodenbeschreibung zur radioimmunologischen Bestimmung von Fluocortolon im Probandenplasma aufgelistet.

- Durchführung
- Konjugatspaltung im Urin

Dem 24-h-Urin wurden je 1.0 ml Urin entnommen und 1 : 1 mit Acetatpuffer (pH 4.66) verdünnt. Dann wurden je 2000 Fishmann Einheiten (1 U entspricht 10.000 F.U.) Enzym und 1000 I.U. Penicillin, um Bakterienwachstum zu verhindern, zugesetzt. Die Lösungen wurden 24 h bei 37°C (im Wasserbad) inkubiert und anschließend auf aktives Enzym überprüft.

- Prüfung auf aktives Enzym

Aus der Stammlösung (10 mg/ml) Phenolphthaleinglucuronid wurden 150 µl mit 10 µl des Inkubationsgemisches versetzt und für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Anschließend wurden 100 µl NaOH (5 N) hinzugefügt. Eine intensive Rotfärbung der Kontrolle zeigte an, daß das Enzym aktiv ist.

- Bestimmung von Fluocortolon im Urin mittels RIA

Die Durchführung des RIA geschah analog der Methodenbeschreibung zur Bestimmung der Fluocortolonkonzentrationen im Probandenplasma. Zur Bestimmung des freien unveränderten Fluocortolon wurde der unbehandelte Urin verwendet und der Faktor 100 gewählt.
Zur Bestimmung des Gesamtfluocortolon wurde der Faktor 500 gewählt und entsprechende Aliquote dem Inkubationsgemisch nach Konjugatspaltung entnommen.

Der Ansatz wurde zusammen mit einer Eichkurve (0, 39, 78.1, 156.3, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000, 10 000 pg Fluocortolon) in Puffer ausgeführt.
Die Auswertung erfolgte anhand der logit-log-transformierten Eichkurve mit Hilfe des Computerprogrammes /ABC/ RIALOG, E am Zentralrechner CHB 66/80 P der Schering AG.
Die Urinproben wurden doppelt bestimmt.

2.3. Auswertung

2.3.1 Berechnung der pharmakokinetischen Parameter von Fluocortolon

Als maximaler Plasmaspiegel (C_{max}) ging der jeweils höchste gemessene Wert und der Zeitpunkt seiner Messung (t_{max}) in die statistische Auswertung ein.
Die Resorptionshalbwertzeit $t_{1/2\ A}$ wurde nach Dost nach der Formel

$$k_e \cdot t_{max} = \frac{1}{\xi - 1} \ln \xi$$ (DOST, 1968) berechnet.

Dabei gilt: $k_e = \ln 2 / t_{1/2\ A}$

$$k_a = k_e \cdot \xi$$

Die zu den $k_e \cdot t_{max}$-Werten gehörigen ξ-Werte wurden der Tabelle von DOST entnommen.
Die Dispositionshalbwertzeit $t_{1/2\ E}$ bzw. die Eliminationskonstante k_e wurde mit Hilfe des FORTRAN-Programmes

/TB/STRIP auf dem Zentralrechner CHB 66/80 P ermittelt. Dazu wurde eine Regressionsgerade durch die Logarithmen des postmaximalen Plasmaspiegelverlaufs gelegt. Die Steigung dieser Gerade ergibt die Eliminationskonstante k_e. Die Halbwertzeit $t_{1/2\ E}$ errechnet sich daraus zu $t_{1/2\ E} = \ln 2/k_e$.

Die Fläche unter dem Fluocortolon-Plasmaspiegelverlauf (AUC) wurde mit Hilfe der Trapezregel bestimmt (Rechenprogramm /TB/FLAECHE). Aus dem Quotient AUC/Dosis errechnet sich dann die Clearance. Aus dem Quotienten Clearance/k_e ergibt sich das Verteilungsvolumen.

- Urinauswertung

Die nach Konjugatspaltung ermittelte Konzentration von Fluocortolon entspricht dem Gesamtfluocortolon. Durch Subtraktion der Konzentration an freiem ungebundenen Fluocortolon ermittelt man das konjugierte Fluocortolon. Durch Multiplikation der jeweiligen Konzentration mit den Volumina des 24-h-Urin läßt sich die jeweils ausgeschiedene Menge in % der applizierten Dosis berechnen.

2.3.2. Bestimmung der Cortisolsuppression

Es sollte der Einfluß von Fluocortolon auf die endogene Cortisol-Sekretion in Abhängigkeit von der Dosis respektive von der Pharmakokinetik untersucht werden. Zur Pharmako-effekt-kinetischen Auswertung wurde zu jedem Mess-

zeitpunkt (jeweils 8.00, 12.00, 16.00 Uhr) die prozentuale Cortisol-Suppression zu den entsprechenden Zeitpunkten der Vorperiode berechnet. Wegen unterschiedlicher Maximalwerte wurden die gemessenen Cortisol-Tagesprofile auf Prozentwerte des Tagesmaximums normiert, wobei die 24 h, 28 h und 32 h-Werte (1. Tag nach Gabe) auf Prozentwerte des 0 h-Wertes (8.00 Uhr morgens am Behandlungstag) normiert wurden.

Die relative Cortisol-Suppression $E_{(t)}$ zum Zeitpunkt = t wurde wie folgt berechnet (LOEW et al., 1985)

$$E_{(t)} = \left[100 \cdot \left[1 - \frac{\frac{c_n\ (t)}{c_n\ (max)}}{\frac{c_v\ (t)}{c_v\ (max)}} \right] \right] \%$$

c = Konzentration mit den Indizes:

n = nach Applikation (supprimierte Cortisolwerte)

v = vor Applikation (normale Cortisolwerte)

3. Ergebnisse

3.1. Zeitlicher Verlauf der Fluocortolon-Konzentration im Plasma

3.1.1. Ergebnisse der HPLC-Bestimmungen

Die Ergebnisse der Fluocortolon-Plasmaspiegel-Bestimmungen mittels HPLC nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg Fluocortolon an 9 Probanden sind in den Tab. 5A, B, C und die Mittelwerte daraus in Tab. 6 wiedergegeben. Abb. 9 A zeigt die Mittelwertsverläufe für die drei Dosierungen in linearer, Abb. 9 B in halblogarithmischer Darstellung.

Nach oraler Gabe von 20 mg wurden maximale Plasmakonzentrationen von 199 $\pm$ 49 ng/ml ($\hat{=}$ 529 $\pm$ 130 nmol/l) 1.44 $\pm$ 0.58 h nach der Applikation erreicht. Bei einer Erhöhung der Dosis auf 50 mg werden nach 1.72 $\pm$ 0.51 h maximale Plasmakonzentrationen von 419 $\pm$ 68 ng/ml (1113 $\pm$ 181 nmol/l) und bei einer Verdoppelung dieser Dosis auf 100 mg nach 2.11 $\pm$ 0.55 h maximal 812 $\pm$ 182 ng/ml (2157 $\pm$ 483 nmol/l) gemessen.

Die Nachweisgrenzen (von ca. 5 ng/ml) werden nach Gabe von 20 mg nach 8 h, von 50 mg nach 10 h und nach Gabe von 100 mg nach 12 h unterschritten.

Die postmaximalen Plasmaspiegel fallen bei allen drei Dosierungen monophasisch ab.

Die nachfolgenden Ergebnisse der pharmakokinetischen Auswertung sind in den Tab. 7 A, B, C wiedergegeben. Nach DOST errechneten sich Resorptionshalbwertzeiten von 0.84 ± 0.58 h für die 20 mg-, 0.91 ± 0.35 h für die 50 mg- und 1.36 ± 0.94 h für die 100 mg-Dosis.
Für die Eliminationshalbwertzeit ergaben sich bei 20 mg 1.63 ± 0.44 h, bei 50 mg 1.75 ± 0.24 h und bei 100 mg 1.9 ± 0.29 h.

Die Flächen unter dem Plasmaspiegelverlauf betrugen nach 20 mg 704 ± 160 ng · $h/_{ml}$, nach 50 mg 1670 ± 375 ng · $h/_{ml}$ und nach 100 mg 3696 ± 646 ng · $h/_{ml}$.

Aus dem Quotienten aus Dosis und AUC wurden Clearance-Werte von 7.04 ± 1.98 $ml/_{min \cdot kg}$ (20 mg), 7.31 ± 1.51 $ml/_{min \cdot kg}$ (50 mg) und 6.4 ± 1.53 $ml/_{min \cdot kg}$ (100 mg) errechnet.

Die Eliminationskonstanten wurden mit 0.45 ± 0.1 h^{-1} (20 mg), 0.4 ± 0.06 h^{-1} (50 mg) und 0.37 ± 0.06 h^{-1} (100 mg) berechnet.

Für die Verteilungsvolumina ergaben sich aus dem Quotienten aus Clearance durch Eliminationskonstante 0.97 ± 0.31 l/kg (20 mg), 1.1 ± 0.28 l/kg (50 mg) und 1.03 ± 0.15 l/kg (100 mg).

3.1.2. Ergebnisse der radioimmunologischen Bestimmungen

Ein Vergleich der mit der HPLC und mit RIA ermittelten Fluocortolonkonzentrationen ergibt, daß die radioimmunologisch bestimmten Werte meist geringfügig unter denen mittels HPLC ermittelten Werten liegen (Tab. 8 A, B, C und Tab. 9).
So betrugen die maximalen Plasmakonzentrationen nach Gabe von 20 mg 139 ± 35 mg/ml (369 ± 93 nmol/l) und 50 mg 312 ± 70 mg/ml (829 ± 186 nmol/l), nach 100 mg 654 ± 133 ng/ml (1737 ± 353 nmol/l). Die Berechnung der pharmakokinetischen Parameter ergab praktisch die gleichen Werte wie vorher im Ergebnisteil der Bestimmung mittels HPLC angegeben (Tab. 10 A, B, C).

3.2. Bestimmung des freien und proteingebundenen Anteils von Fluocortolon

3.2.1. In vitro-Untersuchungen
- Bindung von Fluocortolon an Plasmaproteine
- Bindung von Fluocortolon in Gegenwart von Cortisol

Die Ergebnisse der in vitro-Untersuchungen der Bindung von Fluocortolon an Plasmaprotein in Abhängigkeit von der eingesetzten Konzentration einmal ohne und einmal in

Gegenwart von Cortisol (200 ng/ml) sind in Tab. 11 zusammengefaßt.

Ohne Cortisol ist Fluocortolon bis zu einer Konzentration von ca. 50 ng/ml zu 98 % an Plasmaproteine gebunden. Bei Erhöhung der Konzentration auf 1000 ng/ml steigt der freie, ungebundene Anteil von Fluocortolon von 2 % auf ca. 12 %.

In Gegenwart von 200 ng Cortisol/ml Plasma wird Fluocortolon bis zu einer Konzentration von ca. 50 ng/ml zu 96 % an Plasmaprotein gebunden. Wird die Konzentration auf 1000 ng/ml erhöht, steigt der freie, ungebundene Anteil von Fluocortolon auf ca. 14 %.

3.2.2. In vivo Untersuchungen

- Bindung von Fluocortolon im Probandenplasma 2 Stunden nach Applikation

Die Konzentration an freiem Fluocortolon, bestimmt für die Plasmakonzentration 2 Stunden nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg Fluocortolon, sind in Tab. 12 wiedergegeben. Nach Gabe von 20 mg sind bei einer mittleren Konzentration von 181 $\pm$ 45 ng/ml ca. 6 % des Fluocortolons nicht an Protein gebunden. Bei der Erhöhung der Dosis auf 50 mg steigt der freie Anteil bei einer mittleren Konzentration von 400 $\pm$ 70 ng/ml auf ca. 9 %. Bei der Verdoppelung dieser Dosis auf 100 mg steigt der freie Anteil bei einer mittleren Konzentration von 787 $\pm$ 193 ng/ml auf ca. 11 %.

3.3. Zeitlicher Verlauf der Cortisol-Konzentrationen im Plasma vor, während und nach der Behandlung mit Fluocortolon

Die Ergebnisse der Cortisol-Plasmaspiegelbestimmungen mittels HPLC sind in den Tab. 13 A, B, C zusammengefaßt. Die Mittelwerte ± Standardabweichung sind in Tab. 14 wiedergegeben. Abb. 10 zeigt die Mittelwertverläufe von Cortisol vor, während und nach Gabe von 20, 50 und 100 mg Fluocortolon. Abb. 11 zeigt die auf den 8.00-Uhr-Wert des Behandlungstages normierten Cortisolwerte vor, während und nach Gabe von Fluocortolon.

Die Cortisoltagesprofile in den Abb. 10 und 11 zeigen deutlich einen zirkadianen Rhythmus mit den höchsten Werten in den Morgenstunden, einem Abfall bis zum Abend und einem Wiederanstieg bis zum nächsten Morgen.

Nach Gabe von Fluocortolon um 8.00 Uhr morgens (Behandlungstag) nehmen die Plasmacortisolspiegel rasch ab (mit steigender Dosis auch zunehmend rascher) und zeigen 4 - 12 h nach Gabe ein nahezu konstantes, bei allen drei Dosierungen ein fast gleich großes Minimum. 24 h nach Gabe von Fluocortolon werden bei der 20 mg- und 50 mg-Dosis fast wieder die Cortisolspiegelwerte vom Behandlungstag erreicht, während nach der 100 mg-Dosis die Werte nur knapp über 50 % der Werte des Behandlungstages liegen.

Erst 48 h nach Applikation werden auch nach der höchsten geprüften Dosis wieder die gleichen Cortisolspiegelwerte wie vor der Applikation erreicht.

3.4. Bestimmung des freien und proteingebundenen Anteils von Cortisol

- Bindung von Cortisol an Plasmaproteine
- Bindung von Cortisol in Gegenwart von Fluocortolon

Die Bindung von Cortisol an Plasmaprotein in Abhängigkeit von der eingesetzten Konzentration ohne und in Gegenwart von Fluocortolon (500 ng/ml) ist in Tab. 15 zusammengefaßt.

Ohne Fluocortolon ist Cortisol bis zu einer Konzentration von ca. 50 ng/ml zu 97 % an Protein gebunden. Bei 125 ng/ml sind noch ca. 95 % gebunden. Wird die Konzentration auf 250 ng/ml erhöht, fällt der proteingebundene Anteil auf deutlich unter 90 % ab. Bei einer Konzentration von 500 ng/ml fällt der gebundene Anteil unter 80 % und bei einer Verdoppelung dieser Konzentration auf 1000 ng/ml fällt er auf ca. 72 % ab.

In Gegenwart von 500 ng Fluocortolon/ml Plasma beträgt der Prozentsatz an freiem, ungebundenen Cortisol bis zu einer Konzentration von 125 ng/ml, das 2,5 bis 3-fache der Werte ohne Fluocortolon. Erst ab einer Konzentration

von 250 ng/ml entsprechen sich die Werte an freiem, ungebundenem Cortisol, unabhängig, ob ohne oder in Gegenwart von Fluocortolon.

3.5. Ausscheidung von Fluocortolon im Harn

Die radioimmunologisch bestimmte Konzentration des freien Fluocortolons und des Gesamtfluocortolons (Summe aus freiem und konjugiertem Fluocortolon) in der 24-h-Harn-Fraktion nach oraler Gabe der drei Fluocortolondosierungen ist in der Tab. 16 wiedergegeben.
Durch Multiplikation der Konzentration des freien Fluocortolon bzw. der Differenz zwischen Gesamtfluocortolon und freiem Fluocortolon mit den individuellen Harnvolumina errechnet sich die Ausscheidung an freiem und konjugiertem Fluocortolon in µg bzw. Prozent der jeweils applizierten Dosis (Tab. 17).

Nach oraler Gabe von 20 mg Fluocortolon wurden innerhalb der ersten 24 Stunden 0.59 ± 0.06 % (≙ 118 ± 12 µg) als unverändertes Fluocortolon und 8.1 ± 1.4 % (≙ 1625 ± 290 µg Fluocortolon-Äquivalente) in konjugierter Form mit dem Harn ausgeschieden.

Nach Einnahme von 50 mg Fluocortolon betrug der Anteil des unveränderten Fluocortolons im Harn 0.48 ± 0.09 % (≙ 242 ± 46 µg) und der Anteil der Fluocortolonkonjugate 8 ± 2.2 % (≙ 3976 ± 1101 µg Fluocortolon-Äquivalente).

Wurde die orale Fluocortolondosis weiter auf 100 mg verdoppelt, so blieb der Anteil an freiem Fluocortolon mit 0.60 ± 0.19 % (≙ 599 ± 194 µg) und der Anteil an konjugiertem Fluocortolon mit 6.6 ± 0.8 % (≙ 6583 ± 743 µg Fluocortolon-Äquivalente) so gut wie unverändert.

4. Diskussion

4.1. Vergleich der Ergebnisse der Fluocortolonbestimmungen im Plasma mittels HPLC- und RIA-Methodik

Die vorliegenden Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Fluocortolon bis zu Dosen von 100 mg, in denen die Fluocortolonkonzentrationen im Plasma sowohl mit HPLC- als auch mit RIA-Methodik bestimmt wurden (Tabellen 5 A, B, C und 8 A, B, C) bestätigen die Befunde einer früheren Studie mit Dosen bis zu 20 mg, in der allein die radioimmunologische Methode Verwendung fand (TÄUBER et al., 1984). Die parallele Bestimmung der Fluocortolon-Konzentrationen im Plasma mit der neu entwickelten HPLC-Methode und mit Hilfe des Radioimmunoassays ergab, daß die radioimmunologische Methode zu Werten führte, die im Mittel um 25 % niedriger lagen (Abb. 12). Die pharmakokinetische Auswertung der beiden Datensätze führte praktisch zu den gleichen pharmakokinetischen Parametern (Tabellen 7 A, B, C und 10 A, B, C).

Die Unterschiede zwischen beiden Methoden könnten dadurch bedingt sein, daß die Bestimmung der Fluocortolonkonzentration in den Plasmaproben bei der HPLC-Methode über eine Plasma-Eichkurve, bei der RIA-Methode über eine Puffer-Eichkurve erfolgte.

Während bei der radioimmunologischen Methode die unbekannten Plasmaproben mit Diäthyläther extrahiert werden,

wird die Puffer-Eichkurve nicht mitextrahiert. Versuche mit ^{3}H-markierter Substanz ergaben, daß Fluocortolon unabhängig von der Konzentration unter den vorliegenden Bedingungen aus Plasma mit Diäthyläther mit einer Ausbeute von ca. 90 % extrahiert wird (TÄUBER et al., 1984). Die nicht ganz vollständige Extraktion allein kann also die beobachteten Unterschiede zwischen HPLC- und RIA-Bestimmung nicht erklären. Die zu bestimmenden Plasmaproben müssen, damit ihr Fluocortolon-Gehalt in den linearen Teil der RIA-Eichkurve fällt, nicht unbeträchtlich verdünnt werden. Möglicherweise ist die Verdünnung mit Verlusten verbunden, die die Unterschiede zwischen den beiden Methodiken erklären könnten.
Die im Vergleich zur HPLC-Methode eher niedrigeren Werte bei der radioimmunologischen Bestimmung weisen darauf hin, daß der verwendete Fluocortolon-Antikörper s e h r s p e z i f i s c h ist und nicht mit eventuell im Plasma vorhandenen unbekannten Fluocortolon-Metaboliten kreuzreagiert.

TÄUBER et al. (1984) geben für die radioimmunologische Methode eine Intra-Assay-Varianz von 3.3 % und eine Inter-Assay-Varianz von 10.7 % an, wobei allerdings nicht eindeutig ist, ob diese Varianzen für den gesamten Konzentrationsbereich gelten. Die Nachweisgrenze liegt beim RIA theoretisch bei 20 pg Fluocortolon pro Teströhrchen, wird aber in der Praxis durch die Plasmaleerwerte von 0.24 ng/ml begrenzt. Für die HPLC-Methode wurde für eine

vorgegebene Konzentration von 100 ng/ml eine Intra-Assay-Varianz von 3.1 % und eine Inter-Assay-Varianz von 4.2 % berechnet. Die Nachweisgrenze ist bei 5 ng Fluocortolon/ml Plasma anzunehmen.

Die tatsächlich mit beiden Bestimmungsmethoden zu vergleichbaren Zeitpunkten bei den Probanden gefundenen interindividuellen Varianzen (Tabelle 18) liegen beträchtlich höher, als die Intra- bzw. Inter-Assay-Varianzen der beiden Methoden. Das weist darauf hin, daß diese Streuungen biologischer Natur sind und nicht primär durch die analytische Methodik vorgegeben sind. Die interindividuellen Varianzen zeigen unabhängig von der verwendeten analytischen Methode einen typischen zeitlichen Verlauf: Sie sind unmittelbar nach der Applikation (0 - 1 h post appl.) hoch, erreichen zwischen 1.5 und 3 h p. appl. ein Minimum (ca. 25 %), um schließlich bei Erreichen der Nachweisgrenze auf Werte zwischen 30 - 60 % anzusteigen. Der terminale Anstieg der Variationskoeffizienten ist bei niedrigen Dosierungen deutlich ausgeprägter als bei hohen Dosierungen.

Dieser typische Zeitverlauf der Varianzen findet sich auch bei anderen Substanzen wie Prednisolon (TÄUBER et al., 1984), nichtsteroidalen Entzündungshemmern wie Pirazolac (TÄUBER et al., 1985) und scheint für die orale Applikationsform der meisten Substanzen typisch zu sein.

Die großen Streuungen in den Plasmaspiegelverläufen unmittelbar nach der Applikation bis zum Erreichen des Plasmaspiegelmaximums dürften ihre Ursache primär in individuellen Unterschieden der Magen-Darm-Motorik und nicht in Unterschieden im Zerfall der Tabletten, in der Auflösungsgeschwindigkeit des Wirkstoffs oder der eigentlichen Resorption durch die Magen- und/oder Darmmukosa haben. Der Wiederanstieg der Varianzen zu späten Zeitpunkten dürfte sowohl biologische als auch analytisch-methodische Ursachen haben: So könnten ein unterschiedlicher Induktionsstatus der mikrosomalen Leberenzyme, Unterschiede im Rückstrom der Substanz aus tieferen Kompartimenten mit individuell unterschiedlicher Kapazität, aber auch der methodisch bedingte Anstieg der Varianz der analytischen Methode bei Annäherung an die Nachweisgrenze mit zur Erklärung dieses Effektes beitragen.

4.2. Pharmakokinetik von Fluocortolon

Fluocortolon wird nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg rasch resorbiert, wobei die maximalen Plasmaspiegelwerte zwischen 1.4 h und 2.1 h post applicationem erreicht werden. Die dabei erreichten maximalen Werte steigen proportional zur Dosis an (Abb. 13).
Der postmaximale Plasmaspiegelabfall kann mit einem offenen Ein-Kompartment-Modell zufriedenstellend beschrieben werden.

Zwar zeigen die Plasmahalbwertzeiten eine zunehmende Tendenz mit steigender Dosis (Tabelle 7 A, B, C), doch waren diese Unterschiede bei keiner Dosis signifikant. Im Mittel wurden im Dosisbereich zwischen 20 und 100 mg für Fluocortolon Halbwertzeiten von 1.76 $\pm$ 0.14 h (HPLC-Methode) bzw. von 1.85 $\pm$ 0.22 h (RIA-Methode) bestimmt. Diese Halbwertzeiten lagen etwas höher als die von TÄUBER et al. (1984) für den Dosisbereich 5 - 20 mg ermittelten Halbwertzeiten von 1.22 $\pm$ 0.16 h (RIA-Methode).
Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen erneut frühere Werte für die Plasmahalbwertzeit von Fluocortolon, die mit verschiedenen anderen Bestimmungsmethoden ermittelt wurden.

GERHARDS et al. (1971) bestimmte mit der Dünnschichtchromatographie eine Plasmahalbwertzeit von 50 Minuten. GLEISPACH und PORTA (1981) fanden mit der Protein-Bindungs-Methode eine Halbwertzeit von 1.7 h.
Die von KOLB (1967) nach Gabe von titriertem Fluocortolon an Probanden mit 17 - 21 h und an Patienten sogar mit bis zu einigen Tagen (KOLB und WEYER, 1967) angegebenen Halbwertzeiten beziehen sich auf die Bestimmung der Gesamt-Radioaktivität, also auf ein Gemisch aus Fluocortolon und sämtlicher Metabolite, deren kortikoidwirksame Aktivität vermindert oder vollständig verloren gegangen ist (GERHARDS et al., 1971). GERHARDS und NIEUWEBOER (1967) bestimmten für die Elimination ^{3}H-markierten Fluocortolons und dessen sämtliche Metabolite eine Halbwertzeit von 4 h.

Die Angaben von KOLB (1967) und KOLB und WEYER (1967) haben möglicherweise zu der Fehlinterpretation geführt, daß Fluocortolon eine lange Halbwertzeit hat.

Fluocortolon besitzt von allen synthetischen Kortikosteroiden die kürzeste Halbwertzeit (Tabelle 19). Die Plasmahalbwertzeit von Fluocortolon entspricht ungefähr derjenigen von Cortisol, für das Werte von 1.5 h angegeben werden (AXELROD, 1976, 1981; MORSELLI et al., 1970; KAISER, 1982; PRELE et al., 1975; BOYAR, 1977).
Die Flächen unter den Plasmaspiegelkurven nehmen ebenfalls, wie die maximalen Plasmaspiegel, dosisproportional zu (Tabellen 7 A, B, C, Abb. 14). Das bedeutet, daß Fluocortolon mindestens bis zu einer Dosis von 100 mg vollständig resorbiert und ebenso bioverfügbar ist wie bei niedrigen Dosen. Für Dosen von 10 bis 20 mg wurde eine absolute Bioverfügbarkeit von ca. 80 % angegeben (TÄUBER et al., 1984). Der bei weitem größte Anteil des Fluocortolons im Plasma ist an Proteine gebunden. Dies ergeben auch die Bestimmungen des freien Anteils von Fluocortolon im Probandenplasma 2 h nach oraler Gabe. Nach Gabe von 20 mg liegen 6 %, nach Gabe von 50 mg 9 % und nach Gabe von 100 mg 11 % des im Plasma vorhandenen Fluocortolon in nicht proteingebundener Form vor. Damit werden die Ergebnisse der in vitro-Untersuchungen von TÄUBER (1984) über die Bindung von Fluocortolon und Prednisolon an Plasmaproteine in Abhängigkeit von der eingesetzten Konzentration bestätigt. TÄUBER (1984) ermittelte, daß beide

Substanzen in niedrigen Konzentrationen bis ca. 50 ng/ml zu 97 % an Plasmaproteine - überwiegend an Transcortin (Corticosteroid-Bindung-Globulin, CBG) (FELLIER et al., 1977; ROSE et al., 1981) - gebunden und 3 % in freier Form vorliegen. Bei Steigerung der Kortikoidkonzentration im Plasma auf 1000 ng/ml verzehnfachte sich der freie Anteil bei Prednisolon während er beim Fluocortolon nur etwa auf das Doppelte anstieg.

Das pharmakokinetische Verhalten von Prednisolon ist abhängig von der Dosis. Mit steigender Dosis vergrößern sich das Verteilungsvolumen und die Clearance, während die Plasmahalbwertzeit konstant bleibt oder nur geringfügig ansteigt (PICKUP, 1979, GAMBEPTOGLIO et al., 1980, ROSE et al., 1981, BERGREM et al., 1983).

Für Dexamethason wurde gezeigt, daß sowohl die maximalen Plasmaspiegel als auch die Fläche unter der Plasmaspiegelkurve zwar dosislinear aber nicht dosisproportional ansteigen (LOEW et al., 1984), wobei das Verteilungsvolumen bei einer Dosissteigerung von 0.5 auf 1.5 mg von 29 auf 51 l zunimmt. Dieses nicht-lineare Verhalten ist in der Konzentrationsabhängigkeit der Proteinbindung begründet.
Die wesentlich geringere Abhängigkeit der Proteinbindung des Fluocortolons von der Konzentration ist offenbar mit eine Ursache dafür, daß das pharmakokinetische Verhalten von Fluocortolon zumindest bis zu Dosierungen von 100 mg praktisch unabhängig von der Dosis ist.

Clearance und Verteilungsvolumen bleiben im gesamten Dosierungsbereich konstant.
Diese Dosisproportionalität im pharmakokinetischen Verhalten des Fluocortolons bestätigt sich im Ausscheidungsverhalten. Für die Ausscheidung von Fluocortolon in den ersten 24 Stunden nach oraler Gabe wurde bei allen drei Dosierungen für den freien unveränderten Anteil ca. ein halbes Prozent der applizierten Dosis und für den an Sulfat oder Glucuronid gebundenen Anteil ein Wert von 7.5 % der applizierten Dosis ermittelt. Damit werden die Ergebnisse der Untersuchungen von GERHARDS et al. (1971) bestätigt, der, bis zu einer Dosis von 90 mg, für die Ausscheidung in konjugierter Form ebenfalls einen Wert von ca. 7.5 % der jeweils applizierten Dosis ermittelte. 99.5 % der totalen Plasma-Clearance entsprechen also der metabolischen (hepatischen) und 0.5 % der renalen Clearance.

4.3. Wirkung auf den Cortisolplasmaspiegel (Effektkinetik)

Der Abb. 15 ist zu entnehmen, daß die einmalige morgendliche Einnahme von Fluocortolon den Plasmacortisolspiegel supprimieren kann.
Die Cortisolspiegel gehen dabei praktisch unabhängig von der Dosis auf Basalwerte von etwa 20 - 25 ng/ml zurück (Tab. 22). Auch von anderen Kortikosteroiden ist bekannt, daß diese die Cortisolsekretion nicht vollständig suppri-

mieren (CERESA et al., 1970; LOEW et al., 1985). Deutlich dosisabhängige Effekte auf den Cortisolspiegel zeigen sich jedoch 24 h nach der Applikation. Abb. 15 zeigt den zeitlichen Verlauf der Fluocortolonspiegel und den Zeitverlauf der Cortisolsuppression für die drei verschiedenen Dosierungen. Man erkennt, daß der maximale pharmakodynamische Effekt erst mit einer zeitlichen Verzögerung von etwa 8 Stunden eintritt. Maximale Wirkungen treten erst immer dann auf, wenn der Fluocortolonspiegel fast schon wieder die Plasmaleerwerte erreicht hat. Dieser verzögerte Wirkungseintritt erklärt sich zwanglos, wenn man annimmt, daß Fluocortolon in dem kompletten Regelkreis des Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems am Hypothalamus eingreift und dort die Sekretion bzw. die Synthese von CRF inhibiert. Die verminderte Ausschüttung von CRF führt schließlich zu einer verminderten Produktion und Ausschüttung von ACTH und schließlich über die Wirkung von ACTH an der Nebennierenrinde zu einem verminderten Cortisolplasmaspiegel.

Für die Hypothese, daß Fluocortolon nur ein Pro-Drug für einen Metaboliten ist, dem die eigentlich pharmakologische Wirkung zuzuschreiben wäre, gibt es keinerlei Belege. In welcher Weise Fluocortolon die Sekretion bzw. Produktion von CRF im Hypothalamus bzw. von ACTH in der Hypophyse hemmt, ist offen. Man kann aber davon ausgehen, daß diese Wirkung ebenso wie andere Kortikosteroidwirkungen im Organismus über die Genexpression vermittelt werden. Nach Diffusion des Kortikosteroids durch die Zellmembran wird dieses an ein cytoplasmatisches Rezeptor-

protein gebunden. Dieser Kortikosteroid-Rezeptor-Komplex wandert in den Zellkern, lagert sich dort am Chromatin an und aktiviert die Transkription. Die dadurch gebildete Messenger-Ribonukleinsäure (m-RNA) tritt in das Cytoplasma über und führt zur Synthese spezifischer Proteine (z.B. Enzyme, Hemmproteine, Rezeptoren), die schließlich zu einer spezifischen Wirkung führen. Die Zahl der gebildeten Kortikoid-Rezeptor-Komplexe, die letztlich über die Intensität der Kortikoid-Wirkung entscheidet, hängt zum Zeitpunkt des maximalen Kortikoidspiegels im Plasma ab von der Kortikosteroiddosis, der Gewebegängigkeit des Kortikosteroids (Verteilungsvolumen), der Stärke der Rezeptorbindung sowie der Dichte und Verteilung der Rezeptoren in den verschiedenen Zielorganen. Der Zeitverlauf der Wirkung - das Auftreten der maximalen Wirkung und das Abklingen dieser Wirkung - dürfte dann im wesentlichen durch die Bindungsgeschwindigkeit des spezifischen Proteins und dessen Turn-over vorgegeben sein. Durch die Hintereinanderschaltung der verschiedenen mit ihrer Eigendynamik ablaufenden Prozesse kommt es schließlich zu dem beobachteten zeitlichen Auseinanderdriften zwischen dem Fluocortolonplasmaspiegelverlauf und dem beobachteten Zeitverlauf der Cortisolsuppression. Fluocortolon hat von allen synthetischen Kortikosteroiden die kürzeste Halbwertzeit, vergleichbar mit derjenigen des körpereigenen Cortisols. Wegen dieser kurzen Plasmahalbwertzeit sind selbst bei der Einnahme einer Fluocortolondosis von 100 mg am Morgen 12 Stunden später - also

zum Zeitpunkt der höchsten Störanfälligkeit des Hypthalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems - nur noch geringste Mengen Fluocortolon im Plasma nachweisbar und damit eine anhaltende Wirkung, die über die einmal in Gang gesetzten Prozesse hinausgeht, nur in geringem Ausmaß vorstellbar. Das könnte die im Vergleich insbesondere zu Kortikoiden mit längerer Halbwertzeit wie Dexamethason oder Bethamethason beobachtete günstige Wirkungs-/Nebenwirkungsrelation von Fluocortolon erklären.

4.4. Konsequenzen für die Therapie

Bei morgendlicher Gabe von Fluocortolon-Dosen von mehr als 20 mg besteht in den ersten 12 Stunden nach Einnahme eine nahezu dosisunabhängige Cortisol-Suppression. Die nachfolgende Erholungsphase ist abhängig von der Dosis. Während sich bei maximalen Dosierungen bis zu 20 mg, wie auch schon in früheren Untersuchungen der 5-, 10- und 20 mg-Dosis von TÄUBER et al (1984) festgestellt, 24 h nach Applikation keine Cortisolsuppression zeigt, besteht bei der 50 mg-Dosis eine Tendenz dazu und ist bei 100 mg eindeutig vorhanden. Jedoch besteht auch nach der 100 mg-Dosis 48 h nach Applikation keine Cortisolsuppression mehr.

Zur Vermeidung einer Nebennierenrindeninsuffizienz sollte Fluocortolon möglichst morgens in nicht zu hoher Dosierung gegeben werden. Erfordert die Akuität oder Schwere der Erkrankung höhere Dosierungen, sollte, wenn immer mög-

lich, die Medikation in alternierender Form, d.h. im 48-Stunden-Rhythmus, erfolgen. Macht die Erkrankung eine zirkadiane Therapie notwendig, ist es nach hoher Initialdosis empfehlenswert, bald möglichst auf eine niedrige Erhaltungsdosis zurückzugehen. In praxi werden als Initialdosen 20 - 60 mg Fluocortolon, in Einzelfällen auch mehr gegeben. Die Erhaltungsdosis liegt zwischen 5 und 20 mg (aus: Ultralan^{R}-oral-5, -20, -50. Zur systemischen Kortikoidtherapie, Ärzteinformation der Schering AG, 1981). Können diese Dosierungen in alternierender Form gegeben werden, sollte die Gefahr einer Nebennierenrindeninsuffizienz oder gar einer NNR-atrophie selbst bei Langzeittherapie sehr gering sein. Diese Schlußfolgerungen für den Dosisbereich bis 100 mg beziehen sich auf Ergebnisse nach jeweils einmaliger oraler Gabe an gesunde Probanden.

Inwieweit die Ergebnisse dieser Studie auf Patienten übertragbar sind, müßte noch untersucht werden, wobei die Cushing-Schwellen-Dosis von 7.5 mg für die alternierende Therapie wahrscheinlich neu festgelegt werden müßte.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Pharmakokinetik von Fluocortolon und sein Effekt auf die Plasmacortisolspiegel bei 9 gesunden Probanden nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg beschrieben. Die Plasmaspiegel von Fluocortolon und Cortisol wurden mittels Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) mit UV-Detektion gleichzeitig gemessen.

Fluocortolon wurde bei allen Dosierungen rasch resorbiert. 1.4 - 2.1 Stunden nach Applikation von 20, 50 und 100 mg waren die maximalen Spiegel von 199 ± 49 ng/ml, 419 ± 68 ng/ml und 812 ± 182 ng/ml erreicht.

Die maximalen Plasmaspiegel und die Flächen unter den Kurven nahmen dosisproportional zu. Die postmaximalen Plasmaspiegel fielen monophasisch ab. Die Eliminationshalbwertzeit (1.76 ± 0.34 h), das Verteilungsvolumen (1.03 ± 0.25 l/kg) und die totale Clearance (6.92 ± 0.47 ml/min · kg) erwiesen sich als unabhängig von der Dosis. Intensität und Dauer der Cortisol-Suppression waren abhängig von der Dosis. Die maximale Suppression wurde 8 Stunden nach Applikation beobachtet.

24 Stunden nach Applikation war eine eindeutige Cortisolsuppression nur nach der 100 mg-Dosis zu beobachten, die weitere 24 Stunden später nicht mehr vorhanden war.

6. Literaturverzeichnis

AGABEYGLOU, I.T., WAGNER, J:G: & KAY, D.R.:
A sensitive high pressure liquid chromatographic method for the determination of prednisone, prednisolone and hydrocortisone in plasma.
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 28, 163 - 176 (1980)

AL-HABET, S., ROGERS, H.J.:
Pharmacokinetics of intravenous and oral prednisolone.
Br. J. Clin. Pharmacol. 10, 503 - 508 (1980)

AXELROD, L.:
Glucocorticoid therapy.
Medicine 55: 39 (1976)

AXELROD, L.:
Steroids.
In: Kelley, W.N. et al. (eds.) Textbook of Rheumatology, Saunders Company, Philadelphia, p. 822 - 840 (1981)

BALLARD, P.L., CARTER, J.P., GRAHAM, B.S., BAXTER, J.D.:
A Radioreceptor Assay for Evaluation of the Plasma Glucocorticoid Activity of Natural and Synthetic Steroids in Man.
J. Clin. Endocron. Metab. 41, 290 - 304 (1975)

BERGREM, H., GRØTTUM, P., RUGSTAD, H.E.:
Pharmacokinetics and protein binding of prednisolone after oral and intravenous administration.
Eur. J. Clin. Pharmacol. 24, 415 - 419 (1983)

BOYAR, R.M.:
Cortisol Secretion and Metabolism in Anorexia Nervosa.
New Engl. J. Med. 296, 190 - 193 (1977)

BUTTE, W.:
HPLC Separation of Fluocortolone and Physiological Corticoids.
Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications, p. 74 (February 1979)

CERESA, F., ANGELIm A., BOCCUZZI, G., PEROTTI, L.:
Impulsive and basal ACTH secretion phases in normal subjects, in obese subjects with signs of adrenocortical hyperfunction and in hyperthyroid patients.
J. Clin Endocrinol. 31: 491 - 501 (1970)

COLBURN, W.A. and BULLER, R.H.:
Radioimmunoassay for prednisolone.
Steroids 21: 833 - 846 (1973)

DIX SMITH, M.:
Kinetic Study of USP Blue Tetrazolium Assay with Methylprednisolone, Hydrocortisone, and Their Hemisuccinate by High-Pressure Liquid Chromatography.
Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 69, No. 8, 960 - 964 (1980)

DOST, F.H.:
Grundlagen der Pharmakokinetik.
Georg Thieme, Stuttgart, S. 268, 280 - 281 (1968)

FELLIER, H., GLEISPACH, H., ESTERBAUER, M.:
Binding von Cortisol, Fluocortolon and Diflucortolon an Humanplasmaproteine.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15, 545 - 548, 1977

FREY, B.M., SCHAAD, H.J., FREY, F.J.:
Pharmacokinetic Interaction of Contraceptive Steroids with Prednisone and Prednisolone.
Eur. J. Clin. Pharmacol. 26, 505 - 511 (1984)

FRIED, J., BORMANN, A.:
Synthetic Derivatives of Cortica Hormones.
Vitamines and Hormones 16, 303 - 369 (1958)

GAMBERTOGLIO, J.G., AMEND, W.J.C., BENET, U.Z.:
Pharmacokinetics and bioavailability of predisone and prednisolone in healthy volunteers and patients: a review.
J. Pharmacokin. Biopharma. 8, 1 - 52 (1980)

GARG, D.C., WAGNER, J.G., SAKMAR, E., WEIDLER, D.J., ALBERT, K.S.:
Rectal and oral absorption of methylprednisolone acetate.
Clin. Pharmacol. Ther., Vol. 26, No. 2, 232 - 239 (1979)

GERHARDS, E., NIEUWEBOER, B.:
Über Stoffwechsel und Stoffwechselwirkungen des Fluocortolons. Fluocortolon-Symposium Berlin, Saladruck Berlin, 20 - 26 (1967)

GERHARDS, E., NIEUWEBOER, B., SCHULZ, G., GIBIAN, H.:
Stoffwechsel von 6α Fluor-16α-Methyl-Pregna-1,4-dion-11ß-diol-3,20-dion (Fluocortolon) beim Menschen.
Acta Endocr. 68, 98 - 126 (1971)

GLEISPACH, H., PORTA, S.:
Ein Beitrag zum Metabolismus von Kortisol, Prednisolon und Fluocortolon.
Wiener klin. Wochenschrift 93, 671 - 673 (1981)

HAYNES, JR., R.C., MURADE, F.:
Adrenocorticotropic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of adrenocortical steroid biosynthesis.
In: The pharmacological basis of therapeutics.
Hrsg. Goodman, L.S., Gilman, A., McMillan Publ. Co. New York, 6. Auflage, 1466 - 1496 (1980)

HUANG, F.-L., Ke, F.-C., HWANG, J.-J., LO, T.-B.:
High-Pressure Liquid Chromatographic Separation of a Mixture of Corticosteroids, Androgens and Progestins.
Archives of Biophysics, Vol. 225, No. 2, 512 - 517 (1983)

KAISER, H.:
Cortisonderivate in Klinik und Praxis.
1. Auflage Thieme, Stuttgart (1957)

KAISER H.:
Praxis der Cortisontherapie.
Urban & Schwarzenberg, München (1982)

KHALID, B.A.K., BURKE, C.W., HURLEY, D.M., FUNDER, J.W., STOCKIGT, J.R.:
Steroid Replacement in Addison's Disease and in Subjects Adrenalectomized for Cushing's Disease: Comparison of Various Glucocorticoids.
J. Clin. Endocrin. Metab. 55, 551 - 559 (1982)

KIESLICH, K., KERB, U.:
Chemische Struktur und Darstellung von Fluocortolon.
Fluocortolon-Symposium Berlin 1967, Saladruck Berlin, 5 - 7 (1967)

KOLB, K.H.:
Pharmakokinetik von Fluocortolon bei Tier und Mensch.
Fluocortolon-Symposium Berlin 1967, Saladruck Berlin, 16 - 20 (1967)

KOLB, K.H., WEYER, H.:
Resorption und Elimination von markiertem Fluocortolon beim Patienten.
Fluocortolon-Symposium Berlin 1967, Saladruck Berlin, 34 - 36 (1967)

LOEW, D., SCHUSTER, O., GRAUL, E.H.:
Pharmakoeffektkinetik von Dexamethason.
Therapiewoche 35, 1106 - 1113 (1985)

LOO, J.C.K., BUTTERFIELD, A.G., MOFFAT, J. and JORDAN, N.:
Analysis of Prednisolone in Plasma by High-Performance Liquid Chromatography.
J. Chromatog. 143, 275 - 280 (1977)

LOO, J.C.K., McGILVERAY, I.J., JORDAN, N., MOFFAT, J., BRIEN, R.:
Dose-dependent pharmacokinetics of prednisone and prednisolone in man.
J. Pharm. Pharmac., 30, 736 (1978)

MATIN, S.B. and AMOS, B.:
Quantitative determination of prednisone and prednisolone in human plasma using GLC and chemical-ionization mass spectrometry.
Journal of Pharmaceutical Sciences 67: 923 - 926 (1978)

MEIKLE, A.W., WEED, J.A. and Tyler F.H.:
Kinetics and interconversion of prednisolone and prednisone studied with new radioimmunoassay.
Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 41: 717 - 721 (1975)

MORSELLI, P.L., MARC, V., GARATTINI, S., ZACCALA, M.:
Metabolism of exogenous cortisol in humans.
I. Diurnal variation in plasma disappearance rate.
Biochem. Pharmacol. 19: 1643 - 1647 (1970)

NEUMANN, F., SCHENCK, B.:
Pharmakotherapie mit Hormonen. Nebennierenhormone.
In: Allgemeine Pharmakologie und Toxikologie.
Hrsg. W. Forth, D. Henschler, W. Rummel.
Bibliographisches Institut Mannheim/Wien/Zürich
4. Auflage, 378 - 388 (1983)

ÖST, L., FALK, O., LANTTO, O. BJÖRGHEM, I.:
Simultaneous determination of prednisolone and Cortisol in serum by HPLC and by isotope dilution-mass spectrometry.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 42, 181 - 187 (1982)

PETERSON, M.C., NATION, R.L., McBRIDE, W.G., ASHLEY, J.J., MOORE, R.G.:
Pharmacokinetics of Betamethasone in Healthy Adults After Intravenous Administration.
Eur. J. Pharmacol. 25, 643 - 650 (1983)

PICKUP, M.E.:
Clinical pharmacokinetics of prednisone and prednisolone.
Clin. Pharmacokin. 4, 111 - 128 (1979)

PRELE, S., DEL, MALACCO, E., BONZI, G., NATELLI, A., RONCORONI, S., LALANBO, H., MILAN, It.:
Significato clinico-prognostico del tempo di emivita del cortisolo plasmatico (dopo-caricoendovenoso) in corso di malattie epatiche acute e croniche.
Minerva Med. 66, No. 22, 1051 - 1057 (1975)

RASPÉ, G., KIESLICH, K., KERB, U.:
16α-Methyl-corticosteron-Derivate.
Arzneimittelforschung 14, 450 - 451 (1964)

ROSE, J.Q., YURCHAK, A.M., JUSKO, W.J.:
Dose dependent pharmacokinetics of prednisone and prednisolone in man.
J. Pharmacokin. Biopharm. 9, 389 - 417 (1981)

SARETT, L.H., PATCHETT, A.A., STEELMAN, S.L.:
The Effects of Structural Alteration on the Anti-Inflammatory Properties of Hydrocortisone.
Fortschritte der Arzneimittelforschung 5, 13 - 140 (1963)

SCHALM, S.W., SUMMERSKILL, W.H.J. and GO, V.L.W.:
Development of radioimmunoassay for prednisone and prednisolone: application to studies of hepatic metabolism of prednisone.
Mayo Clinic Proceedings 51: 761 - 766 (1976)

SCHERING AG
Ultralan^{R}-oral5, Ultralan^{R}-oral-20, Ultralan^{R}-oral-50.
Zur systemischen Kortikoidtherapie.
Ärzteinformation, SCHERING AG, BERLIN, 14. Auflage (1981)

SWARTZ, S.L., DLUHY, R.G.:
Corticosteroids: Clinical Pharmacology and Therapeutic Use.
Drugs 16, 238 - 255 (1978)

TÄUBER, U.:
Plasmaproteinbindung von Fluocortolon und Prednisolon.
Pharma Forschungsbericht Nr. 5834 vom 07.02.1984, SCHERING AG, BERLIN

TÄUBER, U.. HAACK, D., NIEUWEBOER, B., KLOSS, G., VECSEI, P., WENDT, H.:
The pharmacokinetics of fluocortolone and prednisolone after intravenous and oral administration.
Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Tox. 22, 48 - 55 (1984)

TÄUBER, U., WEISS, C., MATTHES, H.:
Pharmacokinetics of Pirazolac - a new Anti-Inflammatory Drug - in Human Volunteers.
Pharm. Res. 4, in press (1985)

TOOTHAKER, R.D., SUNDARESAN, G.M., HUNT, J.P., GOEHL, T.J., ROTENBERG, K.S., PRASAD, V.K., CRAIG, W.A., WELIING, P.G.:
Oral Hydrocortisone Pharmacokinetics: A Comparison of Fluorescence and Ultraviolet High-Pressure Liquid Chromatographic Assays for Hydrocortisone in Plasma.
Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 71, No. 5, 573 - 575 (1982)

TSUEI, S.E., MOORE, R.G., ASHLEY, J.J., McBRIDE, W.G.:
Disposition of Synthetic Glucocorticoids.
I. Pharmacokinetics of Dexamethasone in Healthy Adults.
Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics, Vol. 7, No. 3 (1979)

URIBE, M., GO, V.L.:
Corticosteroid Pharmacokinetics in Liver Disease.
Clinical Pharmacokinetics 4, 233 - 240 (1979)

7. Anhang

- Tabellen

- Abbildungen

Tabelle 1:

Vergleich der Wirkungsstärken sowie der biologischen Halbwertzeiten von Glucokortikoiden

(nach: NEUMANN und SCHENK, entnommen: FORTH, HENSCHLER, RUMMEL, 1983)

Steroid	relative glucokortikoide Wirkung	relative mineralkortikoide Wirkung	Cushing Schwellen-Dosis (mg/d)	Biologische Halbwert-zeit
Cortisol	1	1	30	K
Cortison	0.8	0.8	40	K
Prednison	4	0.6	7.5	M
Prednisolon	4	0.6	7.5	M
6α-Methylprednisolon	5	-	6	M
Triamcinolon	5	-	6	M
Paramethason	10	-	3	L
Betamethason	30	-	1	L
Dexamethason	30	-	1.5	L
Fluocortolon	5	-	6	M

K = kurz wirksam, entspricht 8 - 12 Stunden
M = mittellang wirksam, entspricht 12 - 36 Stunden
L = lang wirksam, entspricht länger als 48 Stunden

Tab. 2

Biologische Daten der Probanden

Proband No.	Initiale	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Größe (cm)
1	RB	32	74.5	184
2	HB	26	65.0	177
3	JC	26	85.0	187
4	GF	34	72.5	170
5	RL	24	89.6	190
6	NP	29	64.1	172
7	KR	31	72.0	176
8	MS	24	66.5	178
9	DW	29	59.0	171
MW $\pm$ SA		28.3 $\pm$ 3.57	72 $\pm$ 9.97	178.3 $\pm$ 7.19

Tabelle 3

Applikationsschema

Proband	1. Behandlungstag	2. Behandlungstag	3. Behandlungstag
1 RB	A	B	C
2 HB	C	A	B
3 JC	A	B	C
4 GF	A	B	C
5 RL	B	C	A
6 NP	C	A	B
7 KR	C	A	B
8 MS	B	C	A
9 DW	B	C	A

Behandlung A = 1 Tablette Ultralan^{R} oral 20 (20 mg Fluocortolon)

Behandlung B = 1 Tablette Ultralan^{R} oral 50 (50 mg Fluocortolon)

Behandlung C = 2 Tabletten Ultralan^{R} oral 50 (100 mg Fluocortolon)

Tab. 4

Schema des Versuchsablaufs

CS = Cortisolplasmaspiegelmessung
FC = Fluocortolonplasmaspiegelmessung

Tag	- 1	0	1	2
Uhrzeit		Behandlungstag		
8.00	CS	CS, FC* CS, FC	CS, FC	CS
12.00	CS	CS, FC CS, FC	CS	CS
16.00	CS	CS, FC CS, FC	CS	CS

* Die Einnahme von Fluocortolon erfolgte um 8.00 Uhr morgens. Der Fluocortolon- und der Cortisolplasmaspiegel wurden 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 und 24 h nach Applikation bestimmt.

Tab. 5 A

Zeitlicher Verlauf der Konzentration von Fluocortolon im Probandenplasma nach oraler Gabe von 20 mg. Bestimmt mittels HPLC. Angaben in ng/ml Plasma

Zeit in Stunden nach Applikation	Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9
0.5	26	143	109	165	215	157	49	157	136
1.0	88	226	148	203	271	157	101	148	212
1.5	164	207	104	180	243	184	114	137	238
2	230	230	144	168	208	189	121	120	219
3	174	123	113	113	164	129	84	121	157
4	133	61	62	58	105	86	43	68	80
6	46	24	17	20	33	28	14	51	30
8	31	-	11	6	13	9	4	20	20
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 5 B

Zeitlicher Verlauf der Konzentration von Fluocortolon im Probandenplasma nach oraler Gabe von 50 mg. Bestimmt mittels HPLC. Angaben in ng/ml Plasma

Zeit in Stunden nach Applikation	Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9
0.5	121	416	58	433	236	268	224	125	224
1.0	236	436	179	364	386	379	356	279	402
1.5	297	461	245	353	456	417	389	347	537
2	324	454	326	304	460	443	392	395	501
3	230	347	242	251	418	406	255	289	316
4	112	219	166	169	315	285	154	210	254
6	45	82	74	66	159	79	79	101	88
8	35	38	28	25	75	27	24	48	27
10	18	12	17	16	36	13	14	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 5 C

Zeitlicher Verlauf der Konzentration von Fluocortolon im Probandenplasma nach oraler Gabe von 100 mg. Bestimmt mittels HPLC. Angaben in ng/ml Plasma

Zeit in Stunden nach Applikation	Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9
0.5	336	297	250	742	289	283	644	649	237
1.0	379	867	569	800	616	435	704	762	441
1.5	666	1242	649	831	783	619	779	630	601
2	825	1255	656	768	725	731	845	684	592
3	686	845	469	727	697	774	560	445	657
4	501	574	330	462	592	483	415	328	506
6	238	229	161	240	280	213	220	163	233
8	131	144	70	175	167	92	129	75	102
10	57	54	21	51	73	24	49	32	32
12	33	32	19	29	43	-	26	15	15

Tab. 6

Zeitlicher Verlauf der Konzentration von Fluocortolon nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg an 9 Probanden. Bestimmt mittels HPLC. Mittelwerte ± Standardabweichungen der Werte aus den Tab. 5 A, B, C. Angaben in ng Fluocortolon/ml Plasma

Zeit nach Applikation in h	20 mg	50 mg	100 mg
0.5	128.6 ± 59.1	233.9 ± 127.3	414.1 ± 202.0
1.0	172.7 ± 60.0	335.2 ± 85.0	619.2 ± 175.9
1.5	174.6 ± 50.1	389.1 ± 89.9	755.6 ± 200.4
2	181.0 ± 44.6	399.9 ± 69.9	786.8 ± 192.7
3	130.9 ± 28.8	306.0 ± 70.8	651.1 ± 135.0
4	77.3 ± 27.6	209.3 ± 66.2	465.7 ± 94.1
6	29.2 ± 12.6	85.9 ± 31.4	219.7 ± 37.7
8	14.3 ± 8.9	36.3 ± 16.4	120.6 ± 38.2
10		18.0 ± 8.2	43.7 ± 17.3
12			26.5 ± 9.8

Tab. 7 A

Zusammenstellung der wichtigsten pharmakokinetischen Parameter nach oraler Gabe von 20 mg Fluocortolon an 9 Probanden (berechnet aus den Werten der Tabelle 5 A)

		Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9	$\bar{X} \pm SA$
t_{max}	(h)	2.0	2.0	1.0	1.0	1.0	2.0	2.0	0.5	1.5	1.44 ± 0.58
C_{max}	(ng/ml)	230	230	148	203	271	189	121	157	238	198.6 ± 49
$t_{1/2\ A}$	(h)	1.02	1.54	0.34	0.4	0.37	1.42	1.64	0.1	0.69	0.84 ± 0.58
$t_{1/2\ E}$	(h)	1.94	1.23	1.73	1.34	1.56	1.35	1.20	2.61	1.67	1.63 ± 0.44
AUC	$\frac{ng \cdot h}{ml}$	839	723	550.5	652	934	723	407	676	834.3	704.3 ± 159.7
Cl	$\frac{ml}{min \cdot kg}$	5.33	7.09	7.12	7.05	3.98	7.19	11.38	7.41	6.77	7.04 ± 1.98
ke	h^{-1}	0.36	0.56	0.4	0.52	0.44	0.51	0.58	0.27	0.42	0.45 ± 0.1
V_D	$\frac{l}{kg}$	0.89	0.76	1.07	0.81	0.54	0.85	1.18	1.65	0.97	0.97 ± 0.31

Tab. 7 B

Zusammenstellung der wichtigsten pharmakokinetischen Parameter nach oraler Gabe von 50 mg Fluocortolon an 9 Probanden (berechnet aus den Werten der Tabelle 5 B)

		Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9	$\bar{X} \pm SA$
t_{max}	(h)	2.0	1.5	2.0	0.5	2.0	2.0	2.0	2.0	1.5	1.72 ± 0.51
C_{max}	(ng/ml)	324	461	326	433	460	443	392	395	537	419.0 ± 68.1
$t_{1/2\ A}$	(h)	1.02	0.72	1.09	0.12	0.96	1.32	1.2	1.02	0.78	0.91 ± 0.35
$t_{1/2\ E}$	(h)	1.93	1.59	1.79	1.88	2.09	1.44	1.62	1.96	1.41	1.75 ± 0.24
AUC	$\frac{ng \cdot h}{ml}$	1164	1936.5	1214.5	1521.5	2314.5	1935.8	1498.5	1573.8	1872.3	1670.2 ± 374.5
Cl	$\frac{ml}{min \cdot kg}$	9.61	6.62	8.08	7.56	4.02	6.72	7.72	7.96	7.54	7.31 ± 1.51
ke	h^{-1}	0.36	0.44	0.39	0.37	0.33	0.48	0.43	0.35	0.49	0.4 ± 0.06
V_D	$\frac{l}{kg}$	1.60	0.9	1.24	1.22	0.73	0.84	1.08	1.36	0.92	1.1 ± 0.28

Tab. 7 C

Zusammenstellung der wichtigsten pharmakokinetischen Parameter nach oraler Gabe von 100 mg Fluocortolon an 9 Probanden (berechnet aus den Werten der Tabelle 5 C)

		Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9	$\bar{X} \pm SA$
t_{max}	(h)	2.0	2.0	2.0	1.5	1.5	3.0	2.0	2.0	3.0	2.11 ± 0.55
C_{max}	(ng/ml)	825	1255	656	831	783	774	845	684	657	812.2 ± 182
$t_{1/2\ A}$	(h)	0.97	1.05	1.08	0.58	0.54	3.13	0.99	1.07	2.81	1.36 ± 0.94
$t_{1/2\ E}$	(h)	2.07	1.87	1.81	2.12	2.40	1.44	2.01	1.82	1.60	1.9 ± 0.29
AUC	$\frac{ng \cdot h}{ml}$	3730.8	4832.3	2770	4230.5	4184.8	3373.3	3779.8	3070.5	3293.5	3696.2 ± 646
Cl	$\frac{ml}{min \cdot kg}$	6.0	5.31	7.08	5.43	4.45	7.71	4.87	8.16	8.58	6.4 ± 1.52
ke	h^{-1}	0.33	0.37	0.38	0.33	0.29	0.48	0.34	0.38	0.43	0.37 ± 0.06
V_D	$\frac{l}{kg}$	1.09	0.86	1.12	0.99	0.92	0.96	0.86	1.29	1.2	1.03 ± 0.15

Tab. 8 A

Zeitlicher Verlauf der Konzentration von Fluocortolon im Probandenplasma nach oraler Gabe von 20 mg. Bestimmt mittels RIA. Angaben in ng/ml Plasma

Zeit in Stunden nach Appl.	Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	127.9	57.9	91.2	160.7	94.2	39.7	110.5	89.2
1	64.2	147.7	100.7	112.7	184.6	112.3	92.1	104.6	137.0
1.5	127.0	189.3	105.8	112.6	185.1	114.2	96.0	90.6	147.2
2	161.9	190.5	97.9	105.6	174.6	140.4	92.2	92.4	152.0
3	121.4	129.2	84.2	78.3	117.4	88.2	69.8	91.1	101.5
4	77.7	75.2	52.5	50.0	93.1	75.4	42.5	60.5	60.6
6	35.8	24.7	16.4	24.0	35.3	29.4	20.4	42.6	18.0
8	12.8	7.3	5.8	9.4	11.3	11.5	5.9	13.5	5.3
10	7.3	3.6	2.3	5.5	5.3	5.6	2.8	6.7	1.1
12	3.8	2.2	-	2.5	3.0	3.3	1.8	4.1	-
24	-	0.7	-	1.0	1.0	1.4	1.3	-	-
28	-	0.9	-	0.6	0.6	1.1	1.1	-	-
32	-	0.8	-	0.4	0.9	1.1	1.2	-	-
48	-	0.9	-	1.1	0.4	1.1	1.2	-	-

Tab. 8 B

Zeitlicher Verlauf der Konzentration von Fluocortolon im Probandenplasma nach oraler Gabe von 50 mg. Bestimmt mittels RIA. Angaben in ng/ml Plasma

Zeit in Stunden nach Appl.	Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	22.9	286.1	64.4	183.9	159.1	259.5	188.7	87.4	167.1
1	110.7	369.4	152.2	264.2	259.1	369.6	304.2	168.7	327.7
1.5	175.7	326.1	235.2	198.7	313.0	381.9	317.2	205.2	315.0
2	229.8	329.2	295.9	168.9	296.5	469.4	325.2	225.3	282.5
3	254.7	266.3	223.4	183.1	259.1	404.2	246.4	178.1	213.3
4	215.2	166.4	181.4	109.8	236.2	276.2	156.1	139.8	161.8
6	121.7	79.2	102.7	69.9	132.4	107.3	87.1	81.3	71.6
8	54.8	27.4	33.4	27.3	58.9	31.4	31.1	32.6	24.0
10	37.2	12.7	16.0	12.6	30.3	15.3	15.7	17.3	8.2
12	25.0	7.8	10.0	7.1	13.5	8.4	7.1	10.4	7.9
24	1.9	2.1	2.6	1.2	1.4	1.1	-	1.4	1.6
28	1.7	1.8	1.7	0.9	1.4	1.1	-	1.3	1.0
32	2.0	1.6	2.0	0.9	0.3	0.7	-	0.9	1.2
48	1.7	1.8	1.7	0.7	0.3	0.8	-	1.1	1.6

Tab. 8 C

Zeitlicher Verlauf der Konzentration von Fluocortolon im Probandenplasma nach oraler Gabe von 100 mg. Bestimmt mittels RIA. Angaben in ng/ml Plasma

Zeit in Stunden nach Appl.	Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	293.4	241.0	219.6	625.4	185.1	203.8	430.3	361.700	248.7
1	377.4	581.8	521.6	627.0	357.1	288.3	478.5	475.600	426.3
1.5	557.5	844.5	535.0	676.1	484.6	-	532.5	564.700	574.6
2	639.2	958.2	570.1	647.2	546.7	462.4	544.8	588.500	561.6
3	574.3	802.1	433.9	575.8	575.0	762.0	392.4	456.800	567.7
4	442.2	422.3	324.2	601.9	415.8	543.2	307.1	383.300	446.3
6	252.8	243.8	182.1	247.1	276.0	372.5	191.5	160.500	492.3
8	106.0	110.5	62.2	101.9	123.6	143.4	82.1	96.100	47.6
10	57.5	53.3	29.4	53.8	77.0	32.7	48.9	44.600	34.6
12	25.8	28.4	18.0	26.9	51.3	17.7	25.8	24.300	17.4
24	3.1	-	2.5	2.5	3.0	2.7	4.3	3.300	2.8
28	2.1	-	2.2	2.3	2.0	0.6	1.6	2.510	1.9
32	1.6	-	2.4	1.6	1.7	0.6	1.4	2.570	2.0
48	1.5	-	2.3	1.6	0.9	0.4	2.0	2.610	2.4

Tab. 9

Zeitlicher Verlauf der Konzentration von Fluocortolon nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg an 9 Probanden. Bestimmt mittels RIA. Mittelwerte ± Standardabweichungen der Werte aus Tab. 8 A, B, C. Angaben in ng/ml Plasma

Zeit nach Applikation in h	20 mg $\bar{X} \pm SA$	50 mg $\bar{X} \pm SA$	100 mg $\bar{X} \pm SA$
0.5	96.4 ± 38	157.7 ± 86.9	312.1 ± 141.6
1.0	117.3 ± 35.0	258.4 ± 95.4	459.3 ± 109.0
1.5	129.8 ± 36.6	274.2 ± 71.6	596.2 ± 114.2
2	134.2 ± 38.0	291.4 ± 84.8	613.2 ± 140.5
3	97.9 ± 20.7	247.6 ± 66.9	571.1 ± 138.6
4	65.3 ± 16.2	182.5 ± 51.5	431.8 ± 94.5
6	27.4 ± 9.0	94.8 ± 22.4	268.7 ± 104.5
8	9.2 ± 3.2	35.7 ± 12.4	97.0 ± 29.6
10	4.5 ± 2.1	18.4 ± 9.3	48.0 ± 14.9
12	3 ± 0.8	10.8 ± 5.7	26.2 ± 10.3

Tab. 10 A

Zusammenstellung der wichtigsten pharmakokinetischen Parameter nach oraler Gabe von 20 mg Fluocortolon an 9 Probanden (berechnet aus den Werten der Tabelle 8 A)

		Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9	$\bar{X} \pm SA$
t_{max}	(h)	2	2	1.5	1	1.5	2	1.5	0.5	2	1.56 ± 0.53
C_{max}	(ng/ml)	162	191	106	113	185	140	96	110	152	139.4 ± 35.3
$t_{1/2\ A}$	(h)	1.11	1.31	0.83	0.33	0.71	1.09	0.70	0.12	1.8	0.89 ± 0.51
$t_{1/2\ E}$	(h)	1.77	1.47	1.33	1.83	1.61	1.79	1.62	1.93	1.08	1.60 ± 0.27
AUC	$\frac{ng \cdot h}{ml}$	570.5	690.7	417.6	471.0	760.1	563.2	376.4	533.7	541.8	547.2 ± 121.8
Cl	$\frac{ml}{min \cdot kg}$	9.50	7.42	9.47	9.78	4.89	9.23	12.30	9.39	10.42	9.16 ± 2.04
ke	h^{-1}	0.39	0.47	0.52	0.38	0.43	0.39	0.43	0.36	0.64	0.45 ± 0.09
V_D	$\frac{l}{kg}$	1.46	0.95	1.09	1.54	0.68	1.42	1.72	1.57	0.98	1.27 ± 0.35

Tab. 10 B

Zusammenstellung der wichtigsten pharmakokinetischen Parameter nach oraler Gabe von 50 mg Fluocortolon an 9 Probanden (berechnet aus den Werten der Tabelle 8 B)

		Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9	$\bar{X} \pm SA$
t_{max}	(h)	3	2	2	1	1.5	2	2	2	1	1.83 ± 0.61
C_{max}	(ng/ml)	255	329	296	264	313	469	325	225	328	312 ± 70
$t_{1/2}$ A	(h)	1.7	0.89	1.05	0.32	0.6	1.26	1.1	0.95	0.35	0.91 ± 0.44
$t_{1/2}$ E	(h)	2.55	2.32	1.87	1.90	2.06	1.54	1.76	2.10	1.70	1.98 ± 0.32
AUC	$\frac{ng \cdot h}{ml}$	1356.9	1728.6	1257.5	1023.7	1658.1	1992.5	1404.4	1060.2	1288.2	1418.9 ± 319
Cl	$\frac{ml}{min \cdot kg}$	8.25	7.41	7.80	11.2	5.61	3.91	8.24	7.55	11.0	7.89 ± 2.30
ke	h^{-1}	0.27	0.3	0.37	0.36	0.34	0.45	0.39	0.33	0.41	0.36 ± 0.06
V_D	$\frac{l}{kg}$	1.83	1.48	1.26	1.87	0.99	0.52	1.27	1.37	1.61	1.36 ± 0.42

Tab. 10 C

Zusammenstellung der wichtigsten pharmakokinetischen Parameter nach oraler Gabe von 100 mg Fluocortolon an 9 Probanden (berechnet aus den Werten der Tabelle 8 C)

		Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9	$\bar{X} \pm SA$
t_{max}	(h)	2	2	2	1.5	3	3	2	2	1.5	2.11 ± 0.55
C_{max}	(ng/ml)	639	958	570	676	575	762	544	588	574	654 ± 132.7
$t_{1/2}$ A	(h)	1.0	1.03	1.05	0.55	1.74	2.74	0.9	0.96	0.7	1.19 ± 0.67
$t_{1/2}$ E	(h)	2	1.91	1.86	1.91	2.51	1.59	2.30	2.08	1.63	1.97 ± 0.29
AUC	$\frac{ng \cdot h}{ml}$	3189.6	3831.5	2551.3	3760.8	3126.6	3472.3	2653.1	2800.8	3449.6	3204 ± 465
Cl	$\frac{ml}{min \cdot kg}$	7.02	6.69	7.68	6.11	5.95	7.49	9.60	8.95	8.19	7.52 ± 1.24
ke	h^{-1}	0.35	0.36	0.37	0.36	0.28	0.44	0.30	0.33	0.43	0.36 ± 0.05
V_D	$\frac{l}{kg}$	1.20	1.12	1.25	1.02	1.28	1.02	1.92	1.63	1.14	1.29 ± 0.3

Tab. 11

Plasmaproteinbindung von Fluocortolon ohne und in Gegenwart von Cortisol.
Bestimmung mittels Gleichgewichtsdialyse

Konzentration von Fluocortolon in ng/ml Plasma	ohne Cortisol		mit Cortisol (200 ng/ml)	
	% gebunden	% frei	% gebunden	% frei
1000	88.4	11.6	86.5	13.5
500	89.8	10.2	87.8	12.2
250	95.4	4.6	91.2	8.8
125	96.8	3.2	92.1	7.9
62.5	97.9	2.1	95.8	4.2
31.25	98.0	2.0	97.5	2.5
15	98.1	1.9	98.7	1.3

Tab. 12

Konzentration an freiem Fluocortolon im Plasma, 2 Stunden nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg an 9 Probanden. Bestimmt mittels Gleichgewichtsdialyse

	20 mg			50 mg			100 mg		
	Gesamt-konzentration in ng/ml Plasma	% frei	frei in ng/ml	Gesamt konzentration in ng/ml Plasma	% frei	frei in ng/ml	Gesamt-konzentration in ng/ml Plasma	% frei	frei in ng/ml
Vp 1	230	6.09	14	324	7.79	25	825	8.08	67
Vp 2	230	5.36	12	454	8.45	38	1255	8.12	102
Vp 3	144	4.44	6	326	7.81	25	656	7.64	50
Vp 4	168	5.25	9	304	8.35	25	768	11.41	88
Vp 5	208	6.60	14	460	9.39	43	725	13.63	99
Vp 6	189	5.29	10	443	10.96	48	731	11.62	85
Vp 7	121	7.01	8	392	5.58	22	845	11.36	96
Vp 8	120	4.98	6	395	9.58	38	684	11.32	77
Vp 9	219	5.26	12	501	8.80	44	592	10.56	63
	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.
	181.0 ± 44.58	5.59 ± 0.82	10.11 ± 3.1	399.89 ± 69.93	8.52 ± 1.48	34.2 ± 9.97	786.78 ± 192.67	10.42 ± 2.03	80.77 ± 17.86

Tab. 13 A

Cortisolspiegel vor und nach Gabe von 20 mg Fluocortolon an 9 Probanden. Angaben in ng/ml Plasma

Zeit vor bzw. nach Applikation in h	Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9
-24		247	218	332	65	137	167	140	178
-20		76	127	207	43	87	171	55	98
-16		96	121	115	15	97	134	77	111
0 (8.00)	207	189	317	213	56	103	140	122	144
0.5 p.a.	234	141	222	173	61	77	172	105	100
1.0	175	114	127	164	53	63	150	89	92
1.5	140	71	61	138	44	39	112	71	68
2	127	61	73	136	37	65	101	53	54
3	90	34	75	132	31	44	78	39	37
4	61	25	43	97	11	44	51	23	36
6	62	27	19	77	11	35	29	14	15
8	63	16	13	63	23	23	18	13	9
10	75	6	57	58	24	7	20	3	9
12	67	18	26	56	19	9	62	11	10
24	173	133	303	198	80	105	161	99	161
28	73	104	221	189	33	94	126	37	107
32	81	112	150	152	42	52	122	45	70
48	197	213	298	262	66	118	154	112	163
52	132	119	232	185	40	99	106	82	88
56	102	95	230	138	45	82	90	48	84

Tab. 13 B

Cortisolspiegel vor und nach Gabe von 50 mg Fluocortolon an 9 Probanden. Angaben in ng/ml Probandenplasma

Zeit vor bzw. nach Applikation in h	Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9
-24	115	205	187	152	155	178	191	210	278
-20	100	118	89	83	91	107	143	114	213
-16	77	84	67	121	95	47	106	60	99
0 (8.00)	112	144	132	114	121	103	189	228	207
0.5 p.a.	100	145	96	51	116	78	164	118	157
1.0	80	88	65	47	96	57	131	73	77
1.5	61	66	47	48	77	40	108	56	88
2	47	54	31	35	73	38	95	51	67
3	35	45	27	30	67	30	76	38	48
4	23	33	20	40	78	29	63	29	40
6	19	42	10	36	65	23	37	25	25
8	18	19	18	25	61	19	26	12	23
10	13	16	14	10	50	9	13	15	11
12	16	17	17	9	62	7	16	19	18
24	98	132	179	95	137	102	187	145	139
28	50	62	99	233	57	86	148	56	120
32	51	108	83	80	45	59	95	96	136
48	139	109	145	169	107	125	203	187	226
52	84	65	100	76	119	124	141	99	153
56	82	94	100	122	49	74	124	114	162

Tab. 13 C

Cortisolspiegel vor und nach Gabe von 100 mg Fluocortolon an 9 Probanden. Angaben in ng/ml Probandenplasma

Zeit vor bzw. nach Applikation in h	Vp 1	Vp 2	Vp 3	Vp 4	Vp 5	Vp 6	Vp 7	Vp 8	Vp 9
-24	102	253	160	136	66	304	244	101	146
-20	79	115	108	76	23	155	112	187	82
-16	72	184	85	76	32	83	161	52	115
0 (8.00)	143	242	232	172	49	301	199	108	151
0.5 p.a.	80	140	112	69	29	148	86	68	106
1.0	42	85	63	56	53	110	69	45	63
1.5	40	47	60	53	32	75	54	35	34
2	33	50	47	41	46	53	51	35	23
3	27	39	37	35	39	48	44	29	16
4	26	57	32	30	36	51	32	26	14
6	29	39	29	28	38	48	23	20	7
8	24	56	21	18	13	46	26	16	1
10	25	64	11	14	12	45	25	20	7
12	12	71	13	11	8	50	34	21	14
24	97	71	155	86	19	134	98	117	85
28	44	77	86	54	24	100	73	36	70
32	88	83	121	79	10	95	88	51	82
48	135	252	194	213	54	221	234	134	169
52	97	200	146	85	19	153	238	64	69
56	83	155	126	66	14	126	227	30	72

Tab. 14

Cortisolspiegel nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg Fluocortolon an 9 Probanden. Mittelwerte ± Standardabweichungen der Werte aus Tab. 13 A, B, C. Angaben in ng/ml Plasma

Zeit vor bzw. nach Applikation		20 mg FC	50 mg FC	100 mg Fluocortolon
8.00	- 24 h	185.5 ± 80.75	185.7 ± 45.6	168.0 ± 80.9
12.00	- 20 h	108.0 ± 57.0	117.6 ± 40.2	104.1 ± 47.6
	- 16 h	95.8 ± 37.0	84.0 ± 23.7	95.6 ± 49.5
8.00	0'	165.7 ± 76.1	150.0 ± 46.1	177.4 ± 75.9
	30'	142.8 ± 61.9	113.9 ± 37.3	93.1 ± 37.5
	60'	114.1 ± 43.5	79.3 ± 24.5	65.1 ± 21.2
	90'	82.7 ± 38.0	65.7 ± 21.9	47.8 ± 14.2
	2 h	78.6 ± 34.7	54.6 ± 20.7	42.1 ± 10.0
	3 h	62.2 ± 34.2	44.0 ± 17.2	34.9 ± 9.7
12.00	4 h	43.4 ± 25.2	39.4 ± 19.2	33.8 ± 13.1
	6 h	32.1 ± 22.9	31.3 ± 16.0	29.0 ± 12.0
16.00	8 h	26.8 ± 21.0	24.6 ± 14.3	24.6 ± 16.8
	10 h	28.8 ± 27.2	16.8 ± 12.7	24.8 ± 18.6
	12 h	30.9 ± 23.8	20.1 ± 16.2	26.0 ± 21.6
8.00	24 h	157.0 ± 66.9	134.9 ± 33.2	95.8 ± 39.0
12.00	28 h	109.3 ± 63.0	101.2 ± 59.5	62.7 ± 24.8
16.00	32 h	91.8 ± 43.6	83.7 ± 29.1	77.4 ± 31.1
8.00	48 h	175.9 ± 74.4	156.7 ± 42.2	178.4 ± 62.4
12.00	52 h	120.3 ± 57.5	106.8 ± 29.7	119.0 ± 70.5
16.00	56 h	101.6 ± 55.6	102.3 ± 33.0	99.9 ± 66.2

Tab. 15

Plasmaproteinbindung von Cortisol ohne und in Gegenwart von Fluocortolon.
Bestimmung mittels Gleichgewichtsdialyse

Konzentration von Cortisol in ng/ml Plasma	ohne Fluocortolon		mit Fluocortolon (500 ng/ml)	
	% gebunden	% frei	% gebunden	% frei
1000	71.9	28.1	71.6	28.4
500	76.6	23.4	78.2	21.8
250	86.6	13.4	84.0	16.0
125	95.1	4.9	88.7	11.3
62.5	96.9	3.1	90.7	9.3
31.25	97.5	2.5	91.9	8.1
15	97.5	2.5	92.6	7.4

Tab. 16

Konzentration an freiem Fluocortolon und Gesamtfluocortolon im 0 - 24 h Harn nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg Fluocortolon an 9 Probanden.
Angaben in ng/ml. Bestimmung mittels RIA.

	20 mg		50 mg		100 mg	
	freis Flc in ng/ml	Gesamt-Flc in ng/ml	freies Flc in ng/ml	Gesamt-Flc in ng/ml	freies Flc in ng/ml	Gesamt-Flc (n = 5) in ng/ml
Vp 1	96	1480	129	1790	261	2320
Vp 2	78	1096	116	1630	513	
Vp 3	73	1054	114	1536	215	2720
Vp 4	80	1120	145	2522	351	4862
Vp 5	80	1612	214	5384	392	
Vp 6	79	1256	120	2494	301	5476
Vp 7	100	1380	64	1286	472	
Vp 8	64	642	143	2120	271	2664
Vp 9	66	1050	154	2880	339	
	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.	$\bar{X} \pm$ S.A.
	79.55 $\pm$ 12	1187.8 $\pm$ 286.1	133.22 $\pm$ 40.1	2404.7 $\pm$ 1234.4	346.11 $\pm$ 98.73	3608.4 $\pm$ 1449.2

Tab. 17

Ausscheidung von freiem und konjugiertem Fluocortolon im 0 - 24 h Harn nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg Fluocortolon. Angaben in % der applizierten Dosis.

	20 mg				50 mg				100 mg			
	freies Flc		konjug. Flc		freies Flc		konjug. Flc		freies Flc		konjug. Flc	
	µg/24 h	% der Dosis	µg/24 h	% der Dosis	µg/24 h	% der Dosis	µg/24 h	% der Dosis	µg/24 h	% der Dosis	µg/24 h	% der Dosis (n = 5)
Vp 1	124	0.62	1799	9.0	325	0.65	4186	8.4	960	0.96	7577	7.6
Vp 2	122	0.61	1588	8.0	250	0.50	3288	6.6	670	0.67		
Vp 3	108	0.54	1452	7.3	275	0.55	3427	6.9	570	0.57	6688	6.7
Vp 4	112	0.56	1466	7.3	215	0.43	3542	7.1	520	0.52	6631	6.6
Vp 5	118	0.59	2298	11.5	275	0.55	6721	13.4	690	0.69		
Vp 6	102	0.51	1530	7.7	170	0.34	3324	6.6	320	0.32	5486	5.5
Vp 7	124	0.62	1600	8.0	205	0.41	3910	7.8	430	0.43		
Vp 8	140	0.70	1272	6.4	230	0.46	3163	6.3	760	0.76	6533	6.5
Vp 9	108	0.54	1624	8.1	235	0.47	4225	8.5	470	0.47		
$\bar{X}$	117.55	0.59	1625.4	8.14	242.2	0.48	3976.2	7.96	598.88	0.6	6583	6.58
± S.A.	± 11.5	± 0.06	± 290.3	± 1.36	± 45.6	± 0.09	± 1100.8	± 2.19	± 193.5	± 0.19	± 742.8	± 0.75

Tab. 18

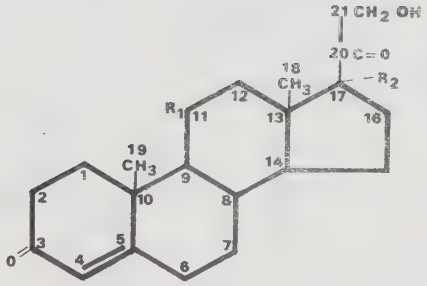
Vergleich des Zeitverlaufs der interindividuellen Variationskoeffizienten für die beiden Bestimmungsmethoden (HPLC und RIA)

$$VK = \frac{100 \times \text{Standardabweichung}}{\text{Mittelwert}}$$

	Dosis 20 mg Flc		Dosis 50 mg FLc		Dosis 100 mg Flc	
Zeit p. appl.	HPLC	RIA	HPLC	RIA	HPLC	RIA
0.5 h	45.9	39.4	54.4	55.2	48.8	45.4
1 h	34.7	29.9	25.4	36.9	28.4	23.8
1.5 h	28.7	28.0	23.1	26.1	26.5	19.1
2 h	24.6	28.5	17.5	29.1	24.5	22.9
3 h	22.0	20.7	23.1	27.0	20.7	24.2
4 h	35.7	24.7	31.6	28.2	20.2	21.9
6 h	43.1	24.4	36.6	23.5	17.1	38.8
8 h	62.5	37.0	45.2	35.4	31.6	30.5
10 h	-	47.7	45.7	50.5	39.7	31.0
12 h	-	26.7	-	54.7	37.0	39.5

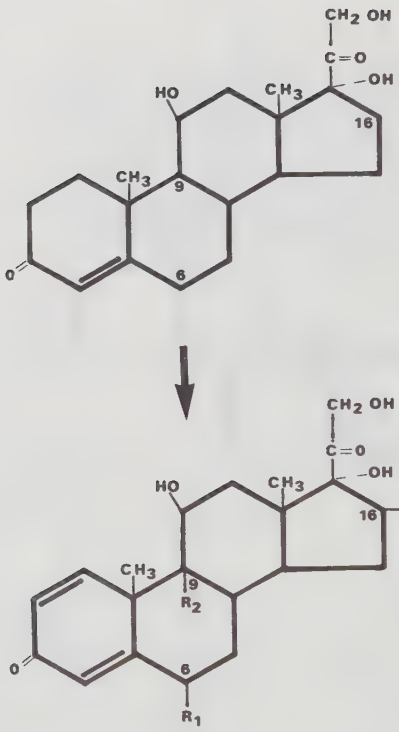
Tabelle 19

Substanz	Bioverfügbarkeit %	Plasmahalbwert-zeit h	Verteilungs-volumen l/kg	totale Clearance ml/min/kg	unveränd. Urin 24 h Clearance %	Referenz
Cortisol		1.5				AXELROD, 1976, 1981; BOYAR, 1977 KAISER, 1982; MORSELLI et al., 1970; PRELE et al., 1979;
Fluocortolon	75 - 90	1.2 - 1.76	0.8 - 1.0	7.0	0.5	TÄUBER et al., 1984; gegenwärtige Studie
Prednisolon	70 - 100	2 - 4	0.5 - 0.6	1.6 - 2.2 2.9 Frauen*	11 - 15	AL-HABET und ROGERS, 1980; BERGREM et al., 1983; FREY et al., 1984*; LOO et al., 1978; PICKUP, 1979; ROSE et al., 1981 URIBE und GO, 1979;
Prednison		2 - 4				PICKUP, 1979
Methylprednisolon		1.3 - 3				GARG et al., 1979;
Triamcinolon		3 - 5				KAISER, 1982
Paramethason		5				KAISER, 1982
Betamethason		5.6	1.35	2.9	4.8	PETERSON et al., 1983; SWARTZ et al., 1978
Dexamethason		3.4 Männer 2.4 Frauen 2.3	1.02	4.5	2.6	TSUEI et al., 1979 LOEW et al., 1985



	R_1	R_2
Hydrocortison (Cortisol)	-OH	-OH
Cortison	=O	-OH
Desoxycorticosteron	-OH	-H

Abb. 1: Chemische Strukturformel der physiologischen Glukokortikoide



R_1	R_2	R_3	Verbindung
6α-Methyl	-	-	Methylprednisolon
6α-Fluor	-	16α-Methyl	Paramethason
-	9α-Fluor	16α-Hydroxy	Triamcinolon
-	9α-Fluor	16β-Methyl	Betamethason
-	9α-Fluor	16α-Methyl	Dexamethason

Abb. 2: Chemische Strukturformeln der synthetischen Glukokortikoide, die sich vom Cortisol ableiten.

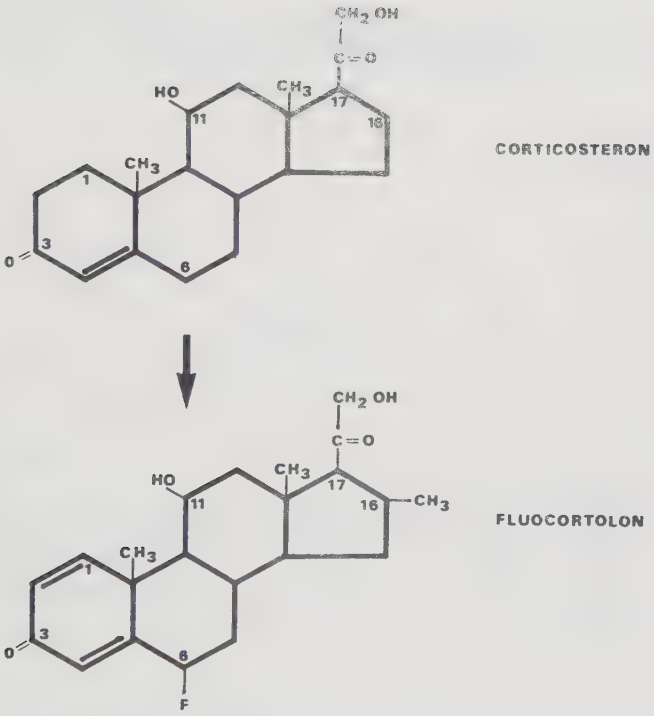


Abb. 3: Chemische Strukturformel des Fluocortolon, das sich als synthetisches Glukokortikoid vom Corticosteron ableitet.

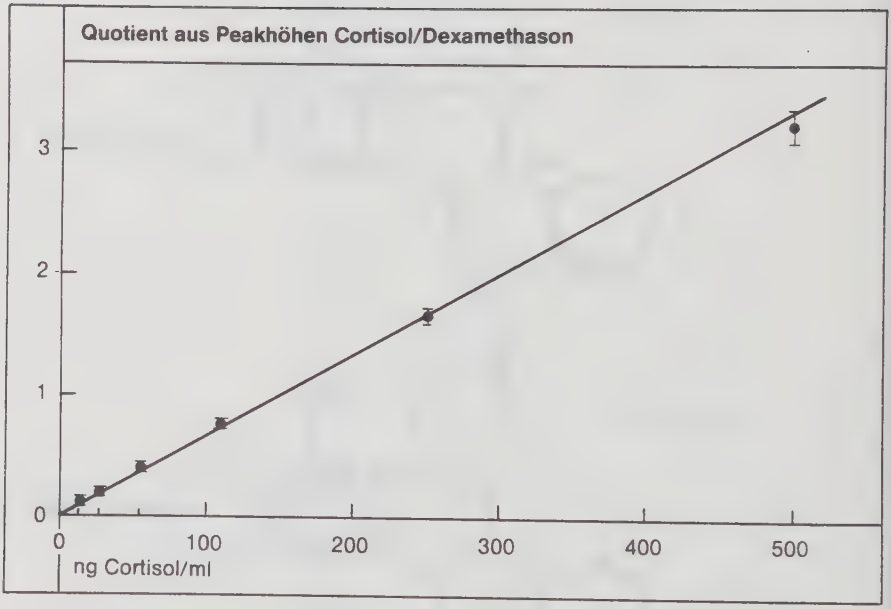


Abb. 4: Eichkurve zur Bestimmung der Cortisol-Konzentration im Probandenplasma mittels HPLC. Aufgetragen sind die Quotienten aus den Peakhöhen von Cortisol und Dexamethason (als interner Standard) in Abhängigkeit von der Cortisol-Konzentration.

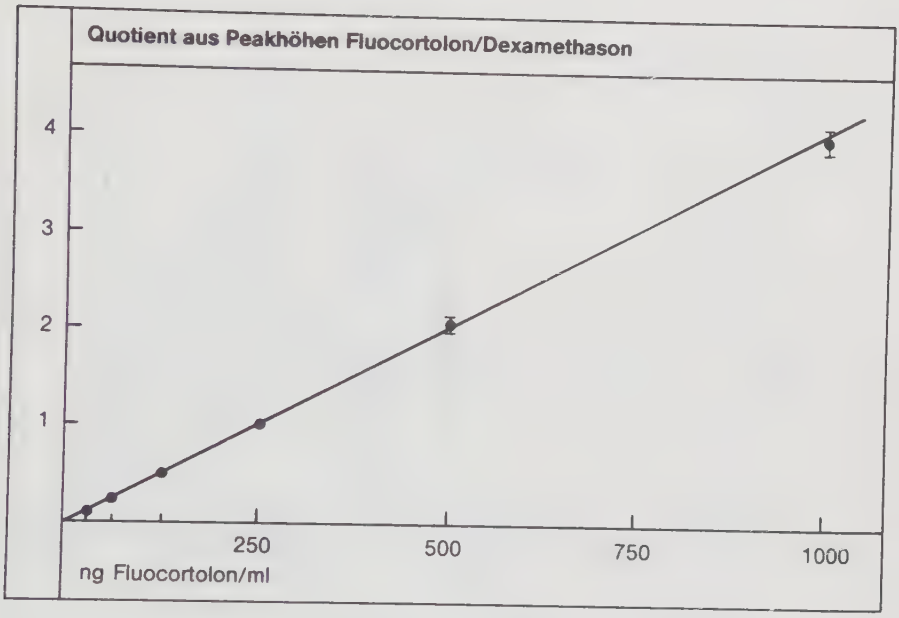


Abb. 5: Eichkurve zur Bestimmung der Fluocortolon-Konzentration im Probandenplasma mittels HPLC. Aufgetragen sind die Quotienten aus den Peakhöhen von Fluocortolon und Dexamethason (als Interner Standard) in Abhängigkeit von der Fluocortolon-Konzentration.

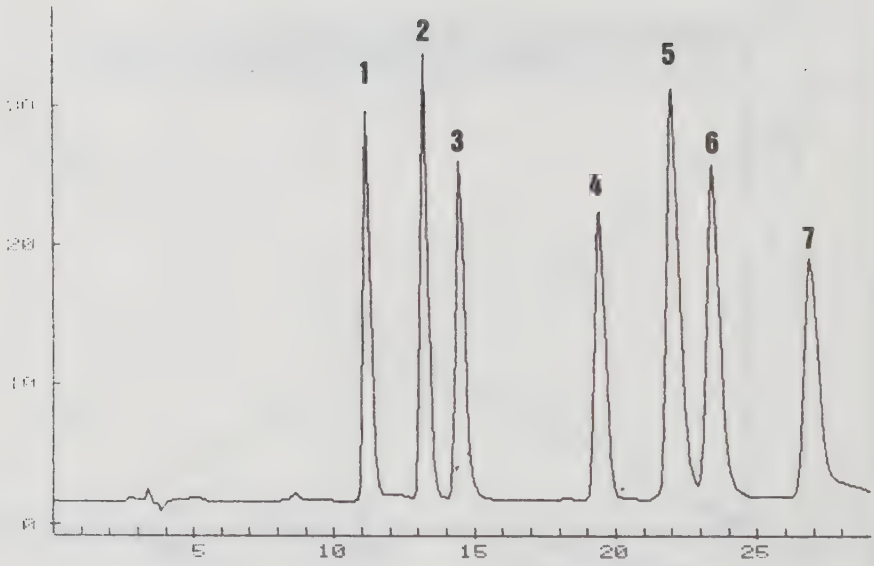


Abb. 6: Das Chromatogramm zeigt die Trennung eines im verwendeten Eluens gelösten Gemisches aus physiologischen und synthetischen Steroiden. Die Nummern auf den Peaks entsprechen folgenden Steroiden:

1 = Cortison
2 = Cortisol
3 = 11-Ketofluocortolon
4 = Dexamethason (verwendet als interner Standard)
5 = Corticosteron
6 = Cortexolon
7 = Fluocortolon

Verwendet wurden zwei hintereinandergeschaltete Spherisorb ODS II 3 µ-Säulen, eluiert wurde isokratisch mit einem Gemisch aus Methanol/Wasser/Eisessig im Verhältnis 580/420/3 (v/v) bei einem Fluß von 0.9 ml/min.
Detektion bei 254 nm.

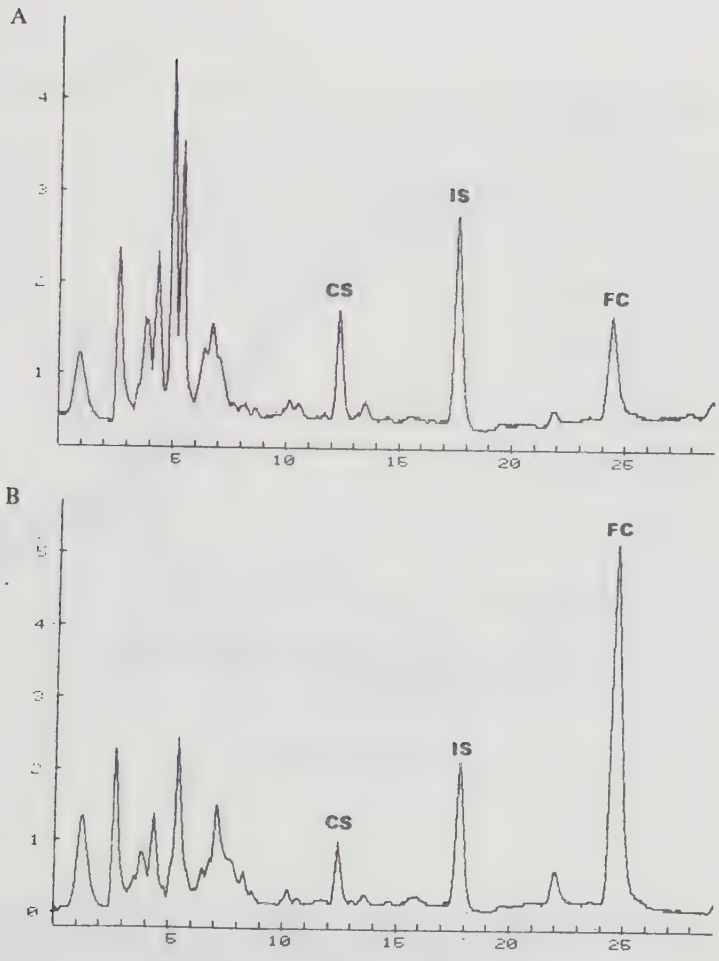


Abb. 7: Zwei repräsentative HPLC-Chromatogramme von Probandenplasma nach Extraktion.

A. entspricht der Plasmaprobe der Versuchsperson Vp 8 M.S. 0.5 Stunden nach oraler Gabe von 20 mg Fluocortolon
B. entspricht der Plasmaprobe der Versuchsperson Vp 4 G.F. 0.5 Stunden nach oraler Gabe von 100 mg Fluocortolon

(CS = Cortisol; IS = Interner Standard; FC = Fluocortolon)

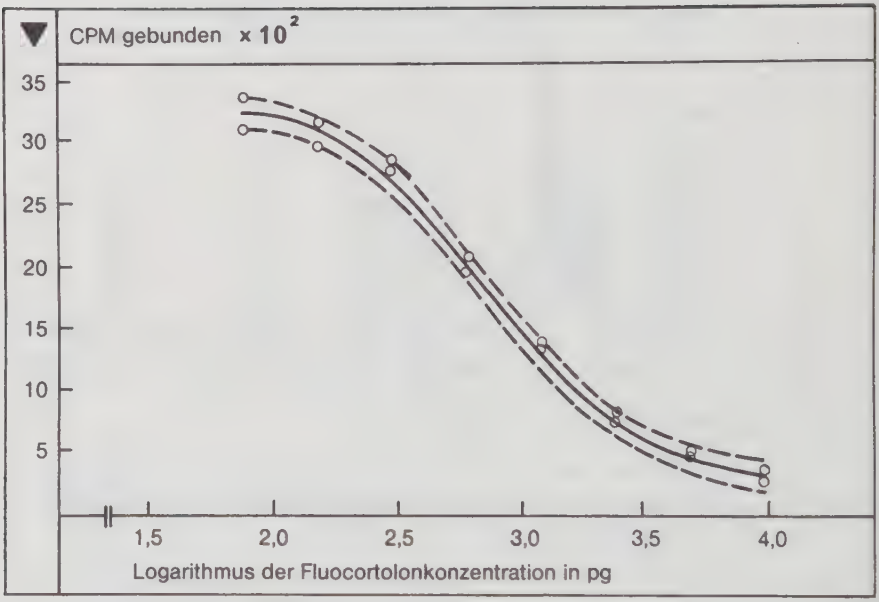


Abb. 8: Eichkurve zur Bestimmung von Fluocortolon im Plasma und im Harn mittels RIA. Aufgetragen ist die antikörpergebundene Radioaktivität in Abhängigkeit vom Logarithmus der Fluocortolon-Konzentration in pg.
Mittels Logit-Log-Transformation (Rechenprogramm: /ABC/RIALOG,E) aus den Meßwerten (X) ermittelter Kurvenverlauf (-) mit 95 %-Vertrauensgrenzen

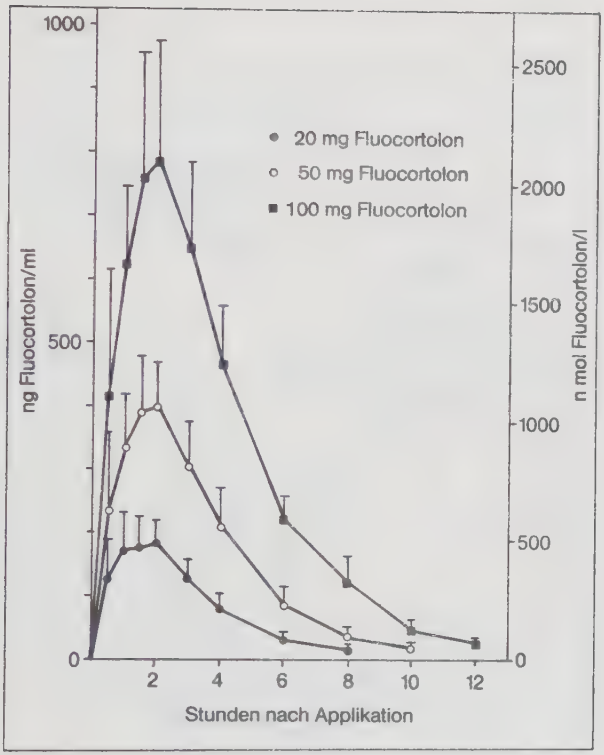


Abb. 9 A: Verläufe der Plasmakonzentrationen von Fluocortolon nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg (*) an 9 männliche Probanden in linearer Darstellung. Mittelwerte ± Standardabweichung.
Ergebnisse der HPLC-Messungen.

* im Abstand von einer Woche

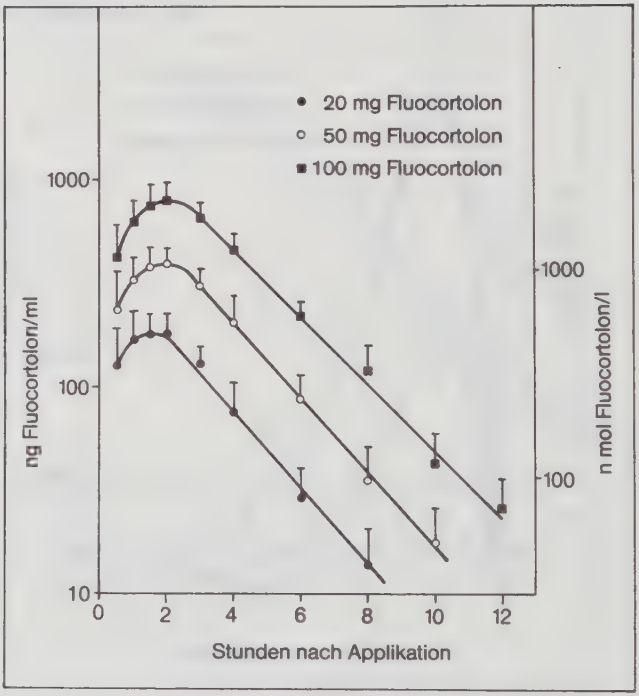


Abb. 9 B: Verläufe der Plasmakonzentrationen von Fluocortolon nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg (*) an 9 männliche Probanden in halblogarithmischer Darstellung. Mittelwerte ± Standardabweichung. Ergebnisse der HPLC-Messungen.

* im Abstand von einer Woche

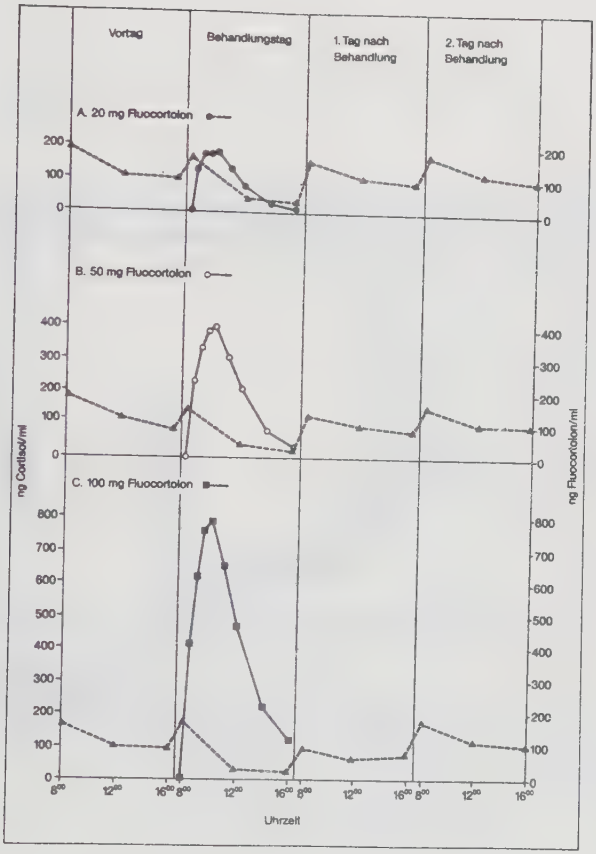


Abb. 10: Verlauf der Konzentration von Cortisol im Plasma vor, während und nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg Fluocortolon (*) an 9 männlichen Probanden.

* im Abstand von einer Woche

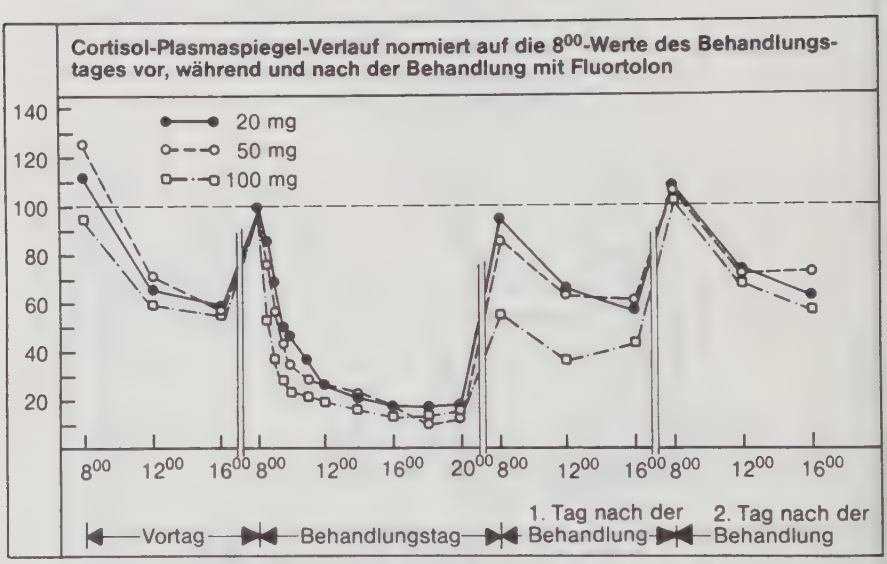


Abb. 11: Verlauf der Plasmakonzentrationen von Cortisol vor, während und nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg Fluocortolon (*) an 9 männliche Probanden. Alle Konzentrationswerte (in %) sind auf den 8.00-Wert (entspricht 100 %) des Behandlungstages bei der jeweils applizierten Dosis normiert.

* im Abstand von einer Woche

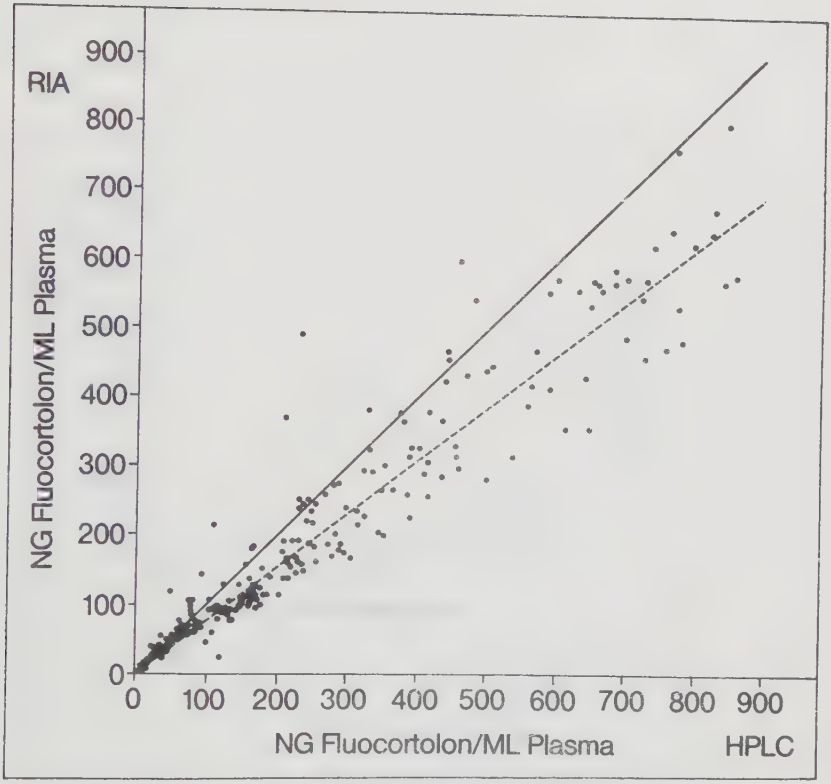


Abb. 12: Vergleich der HPLC-Methode und der RIA-Methode zur Bestimmung der Fluocortolon-Konzentrationen im Probandenplasma.
Die Wertpaare streuen um eine Gerade mit der Gleichung $y = 0.76x + 10$.

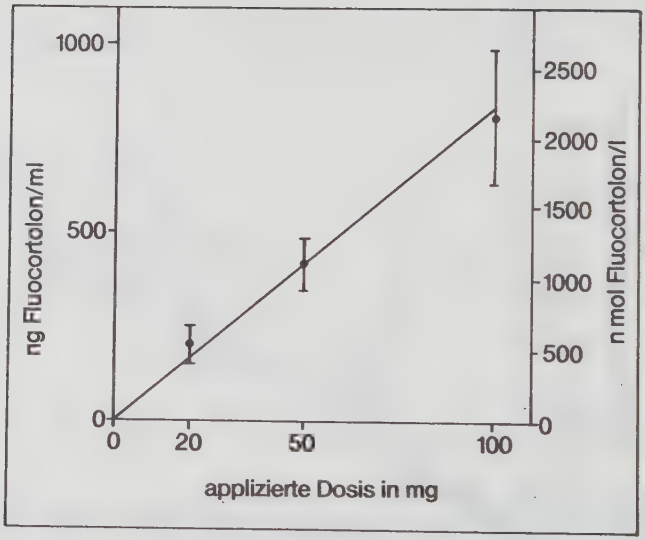


Abb. 13: Maximale Fluocortolonspiegel im Plasma in Abhängigkeit von der Fluocortolon-Dosis.
Mittelwerte von 9 Probanden ± Standardabweichung.
Die lineare Regressionsanalyse ergibt als Geradengleichung C_{max} ng/ml = 8.2 · Dosis mg

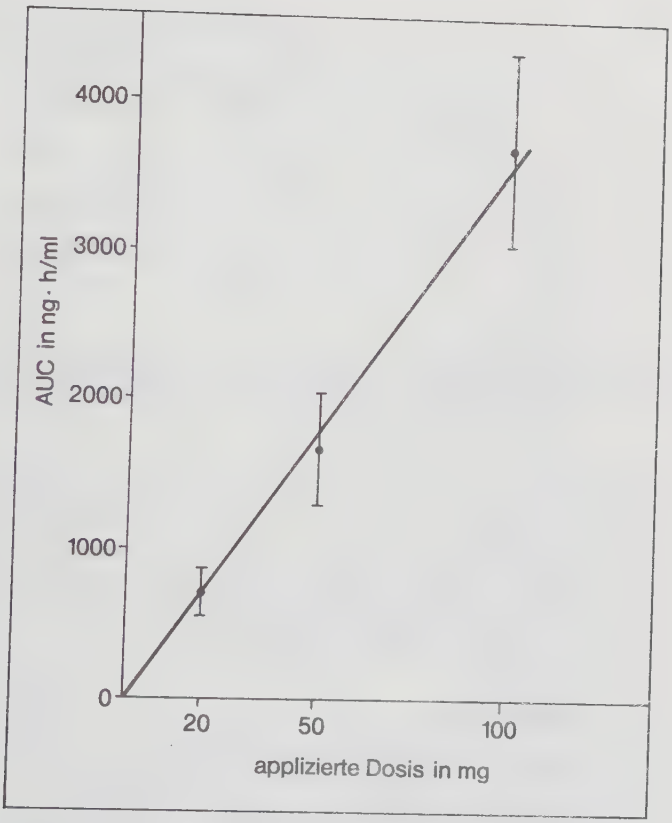


Abb. 14: Mittelwerte ± Standardabweichungen der Flächen unter der Plasmaspiegelkurve von Fluocortolon, die, nach oraler Gabe von 20, 50 und 100 mg an 9 männlichen Probanden, mit Hilfe der Trapezregel errechnet wurden.
Die Werte sind aufgetragen gegen die applizierte Dosis und können mit der Geradengleichung $y = 36.3\ x$ beschrieben werden.

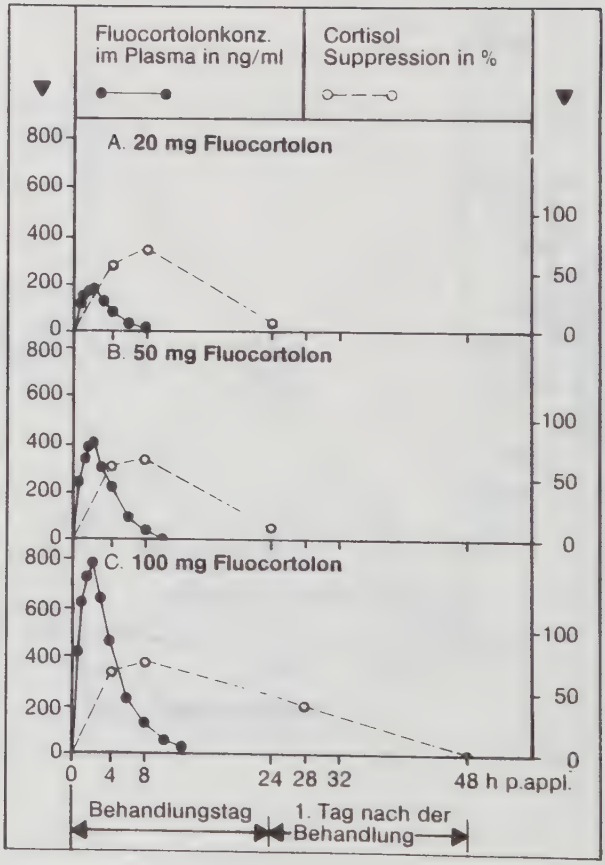


Abb. 15: Zusammenhang zwischen Fluocortolonkonzentrationsverlauf im Plasma und der Cortisolsuppression nach oraler Gabe von 20 mg (A), 50 mg (B) und 100 mg (C) Fluocortolon an 9 männliche Probanden (Mittelwerte).

Schering AG
Dept. Externe Therapie
Sekt. Humanpharmakologie
Dr. H. Matthes
Müllerstraße 1972

Berlin, Mai 84

Probandeninformation

Pharmakokinetik von Fluocortolon (Ultralan^{R}-oral) bei hohen Dosen am gesunden Probanden.

Ziel der Studie ist es, die Wirkstoff- und Cortisolspiegel im Blutplasma, sowie die Ausscheidung des Wirkstoffes und des Cortisols mit dem Harn nach Verabreichung von Einzeldosen Ultralan^{R}-oral zu untersuchen.

Ultralan^{R}-oral ist in Tablettenform seit 14 Jahren im Handel. Es ist ein synthetisches Kortikoid, d.h. ein Nebennierenrindenhormon mit entzündungshemmender und antiallergischer Wirkung, das bei rheumatischen Erkrankungen, entzündlichen Erkrankungen der Haut, der Leber, der Nieren, bei Erkrankungen der Gefäße, des Blutes, der Lunge und der Augen, sowie bei Allergien, toxischen Zuständen bei Infektionskrankheiten, Tuberkulose und inkurablen bösartigen Tumoren angewendet wird.

Die unerwünschten Wirkungen der Kortikoide sind in erster Linie Wirkungen auf die Magenschleimhaut, die sich in Sodbrennen, Übelsein und Schmerzen äußern können. Die Irritationen der Magenschleimhaut können bis zur Schleimhautblutung bzw. Geschwürbildung führen. Weitere bekannte reversible Nebenwirkungen sind Ödeme (Wasserretention), Muskelkrämpfe, Blutdruckerhöhung und Verringerung des Knochengewebes, die durch Natriumretention bzw. Kalium- und Calciumverarmung entstehen.

Ultralan^{R}-oral ist gegenüber anderen Kortikoiden gut verträglich. Bei kurzzeitiger Anwendung, wie in diesem Falle, ist höchstens mit Magenbeschwerden zu rechnen. Deshalb sollen Probanden, die Magenbeschwerden in der Vorgeschichte angeben, nicht am Versuch teilnehmen.

Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Fluocortolon sowie zur Beeinflussung des Cortisolspiegels liegen bis zu Dosierungen von 20 mg vor. Dabei wurde ausschließlich die 5 mg-Tablette untersucht. Fluocortolon wird insbesondere bei Beginn der Behandlung in wesentlich höheren Dosierungen eingesetzt. In der vorliegenden Studie soll die 20 mg- und die 50 mg-Tablette des Handelspräparates verwendet werden.

Die Probanden erhalten in siebentägigen Abständen in zufälliger Reihenfolge jeweils morgens um 8.00 Uhr während eines Standardfrühstückes, bestehend aus Tee, einem Brötchen mit Butter, je eine Tablette à 20 mg, à 50 mg oder 2 Tabletten à 50 mg. Die Tabletten werden mit 100 ml Wasser eingenommen. Zwei Stunden nach der Einnahme wird das eigentliche Frühstück gereicht. Alkoholische Getränke sowie die Einnahme anderer Arzneimittel sind während der Versuchszeit nicht erlaubt. Außerdem soll während der der Prüfung vorangehenden Woche kein Arzneimittel eingenommen worden sind. Die Probanden dürfen innerhalb der letzten 8 Wochen vor dem Versuchsbeginn an keiner Arzneimittelprüfung teilgenommen haben.

Die Blutentnahmen von jeweils 5 ml erfolgen zu folgenden Zeiten:

Am Tag vor der Einnahme: 8.00, 12.00 und 16.00 Uhr,

an Einnahmetagen: 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 Stunden nach Einnahme

am 1. und 2. Tag nach den Einnahmen: 8.00, 12.00 und 16.00 Uhr.

Vor den 8.00, 12.00 und 16.00 und 0-, 4- und 8-Stundenwerten ist jeweils eine halbe Stunde zu ruhen. Das Blut wird dann im Liegen abgenommen (Cortisolwerte).

Der Urin wird in 24-Stundenportionen gesammelt: Am Tag vor der 1. Einnahme und jeweils am Einnahmetag, sowie an den 2 darauffolgenden Tagen (siehe auch anhängenden Versuchsplan).

Die Studie kann jederzeit vom Probanden ohne Angabe von Gründen abgebrochen werden.

Bei Auftreten von Nebenwirkungen ist der leitende Arzt zu informieren, der ebenfalls über die Fortsetzung des Versuches entscheiden kann. Für die korrekte Durchführung des Versuches zahlen wir ein Probandenhonorar von DM. Bei vorzeitigem Ausscheiden zahlen wir anteilmäßig.

Dr. H. Matthes

	Vorwerte Tag -1	Behandlungstag 1., 2. und 3. Tag	1. Tag nach der Behandlung	2. Tag nach der Behandlung
Tabletteneinnahme 8 Uhr morgens		+		
Blutentnahmen Uhrzeiten	8.00* 12.00* 16.00*	8.00* 10.00 16.00* 8.30 11.00 18.00 9.00 12.00* 20.00 9.30 14.00	8.00* 12.00* 16.00*	8.00* 12.00* 16.00*
24 Std.-Urin	+	+	+	+
Augeninnendruck messen	wird einmalig vor dem 1. Behandlungstag gemessen			

Vor allen mit einem * gekennzeichneten Uhrzeiten ist jeweils eine halbe Stunde zu ruhen.

Herrn Prof. Dr. Friedmund Neumann (Leiter des Hauptdepartments Endokrinpharmakologie innerhalb des Fachbereichs Arzneimittelchemie und Pharmakodynamik, Sparte Pharma der Schering AG, Berlin) gilt mein aufrichtiger Dank für die Überlassung des Themas und die Unterstützung dieser Arbeit.

Herrn Dr. Ulrich Täuber (Leiter des Departments Pharmakokinetik A) danke ich ganz besonders für die vorbildliche Betreuung dieser Arbeit, seine hilfsbereite Anleitung, stetige Anregung und konstruktive Kritik.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Mitarbeitern des Departments Externe Therapie und Entzündungstherapie (Leiter: Herr Dr. Hans Wendt), insbesondere bei Herrn Dr. Heinz Matthes für die ärztliche Betreuung der Probanden als Leiter der Studie sowie bei Frau Hertha Damerius, Frau Ingetraud Heinze und Frau Konstanze Rupprecht für ihren Einsatz und ihre Arbeit bei der Durchführung der Studie.

Des weiteren bedanke ich mich bei allen Mitarbeitern des Hauptdepartments Pharmakokinetik (Leiter: Herr Dr. Michael Hümpel) für ihre Hilfsbereitschaft, ganz besonders bei Herrn Christian Weiß, Frau Hannelore Topf und Frau Gabriele Al-Yacoub für ihre Hilfestellung bei der Analytik sowie bei allen weiteren Mitarbeitern der Schering AG Berlin, die indirekt an dieser Arbeit mitwirkten.

Mein Dank gilt auch Frau Monika Schönemaier für die Mühe und Arbeit beim Schreiben der Dissertation.

LEBENSLAUF

Name:	Kurt Richter
geboren am:	18. August 1951
Geburtsort:	Altensteig

Schulbildung

1958 - 1963	Besuch der Volksschule Altensteig
1963 - 1968	Absolvent der Realschule Pfalzgrafenweiler
1968 - 1972	Besuch der Jugenddorf Christophorus-schule Altensteig Abschluß: Allgemeine Hochschulreife

Berufsbildung

1972 - 1974	Studium der Mathematik und Physik an der Universität Freiburg (3 Sem.)
1974 - 1976	Studium der Biologie an der Universität Konstanz mit anschließendem Vordiplom
1976 - 1979	Fortsetzung des Studiums der Biologie an der Universität Tübingen mit anschließenden Diplomprüfungen in den Fächern: Mikrobiologie, Genetik, Biochemie und Pflanzenphysiologie
1979	Zulassung zum Studium der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde an der Freien Universität Berlin Anerkennung bisher erbrachter Studienleistungen mit zwei Semestern auf den vorklinischen Teil des Zahnmedizinstudiums und Befreiung von der naturwissenschaftlichen Vorprüfung
01.04.1981	Abschluß der zahnärztlichen Vorprüfung
27.02.1984	Staatsexamen
Mai 1984 bis April 1985	Arbeit an der Dissertation
seit 15.10.1984	Ausbildungsassistent in einer kassenzahnärztlichen Praxis in Berlin

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen